FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

Année 19 1970

N° 43

THESE

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

Gérard TRUFFET

né le 13 novembre 1942 à PARIS XII

Ancien Externe des Hôpitaux de PARIS

Présentée et soutenue publiquement le 1970

LE TAUX SERIQUE D'ACIDE FOLIQUE CHEZ LES PERSONNES AGEES. A PROPOS DE 174 DETERMINATIONS CHEZ DES SUJETS HEMATOLOGIQUEMENT NORMAUX.

(TRAVAIL DE LA FONDATION DE ROTHSCHILD, PARIS XII)

Médecin-Chef : Docteur Sam LEWI

Président : Monsieur le Professeur G. SCHAPIRA

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

Année 19 N°

THESE

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

Gérard TRUFFET
né le 13 novembre 1942 à PARIS XII
Ancien Externe des Hôpitaux de PARIS

Présentée et soutenue publiquement le 19

LE TAUX SERIQUE D'ACIDE FOLIQUE CHEZ LES PERSONNES AGEES. A PROPOS DE 174 DETERMINATIONS CHEZ DES SUJETS HEMATOLOGIQUEMENT NORMAUX.

(TRAVAIL DE LA FONDATION DE ROTHSCHILD, PARIS XII)
Médecin-Chef : Docteur Sam LEWI

Président : Monsieur le Professeur G. SCHAPIRA

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

INTRODUCTION

L'acide folique, vitamine du groupe B, occupe une place particulièrement importante dans le métabolisme cellulaire en raison de l'étendue de son action. Facteur de l'hématopoïèse, il fut employé dans le traitement de l'anémie de BIERMER. Il faut, d'autre part, souligner les rapports étroits qui existent entre son métabolisme et celui des autres facteurs de l'hématopoïèse, vitamine B 12 et fer notamment. Ses fonctions générales de donneur de radicaux monocarbonés le font intervenir dans la synthèse des acides nucléiques et, par-là même, dans tous les processus de multiplication cellulaire.

Son métabolisme, relativement bien connu, est exposé à des agressions très diverses qui peuvent se produire à n'importe quel niveau :

- défaut d'apport par alimentation insuffisante,
- défaut d'absorption dû à différentes affections digestives : stéatorrhées, mais aussi toute autre cause de malabsorption intestinale,
- facilité avec laquelle médications et intoxications peuvent entraver son action : anticonvulsivants, alcoolisme,
- énorme augmentation des besoins dans tous les processus de multiplication cellulaire : leucémies, cancers, et surtout grossesse.

On peut donc, sur les seules données théoriques, prévoir l'existence de nombreux cas de carence en acide folique. Le perfectionnement des méthodes de diagnostic est venu confirmer cette hypothèse.

Le diagnostic de carence en acide folique est tout d'abord hématologique ; il existe une anémie d'un type particulier, associant mégalocytose et mégaloblastose médullaire.

Son activité métabolique peut être appréciée par un test dynamique : test de charge en histidine. L'administration, per os, d'histidine, provoque en cas de carence, une augmentation importante de l'excrétion urinaire de l'acide formiminoglutamique.

.../...

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552011_0025

Enfin, des méthodes de dosage physico-chimiques ou microbiologiques permettent de déterminer le taux sérique ou la teneur des hématies en acide folique.

La diminution des processus métaboliques, la grande fréquence des troubles digestifs et des mauvaises conditions de nutrition paraissent devoir entraîner de nombreux cas de carence folique chez les personnes âgées.

De nombreuses études ont été faites sur ce sujet, en particulier par les auteurs britanniques, mais les résultats obtenus sont extrêmement discordants. Il est vraisemblable que la diversité des populations étudiées explique ces apparentes contradictions.

Dans une étude portant sur 174 personnes âgées de 58 à 98 ans (âge moyen : 79 ans, 8 mois) hématologiquement normales, recrutées parmi les pensionnaires de la Fondation de ROTHSCHILD, nous nous somme efforcés, par mesure du taux sérique d'acide folique, d'apprécier la fréquence de cette carence.

METABOLISME

I - L'ACIDE FOLIQUE DANS L'ALIMENTATION -

Dans l'alimentation, l'acide folique est présent sous deux formes :

- une forme que l'on appelle libre : acide ptéroyl mono et triglutamique,
- une forme dite conjuguée, essentiellement, acides hexa et heptaglutamique et quelques composés contenant glycine, sérine, alanine.

La forme libre représente seulement 10 à 25 % de la quantité totale de folate.

Les nombreux travaux effectués en vue de déterminer la quantité d'acide folique contenue dans le régime alimentaire quotidien de l'homme donnent des résultats très différents selon les auteurs.

L'acide folique est thermolabile et, par conséquent, détruit par la cuisson des aliments, surtout par la cuisson prolongée dans de grandes quantités d'eau qui diluent la vitamine.

La fraction conjuguée ne peut être dosée qu'après avoir fait agir une préparation enzymatique, conjugase pancréatique en général.

D'autre part, les résultats obtenus sont différents selon le micro-organisme employé. Lactobacillus Casei donne des valeurs supérieures à celles obtenues en employant Streptococcus Fecalis.

CHANARIN et coll. (1) ont fait des dosages sur des aliments cuits, composant le régime journalier de femmes enceintes, en utilisant L. Casei avant et après action de la pancréas conjugase. La nourriture des 24 h contient 160 γ d'acide libre et 676 γ sous forme conjuguée, avec des variations :

- selon les sujets de 53 γ à 296 γ de folate libre,
- d'un jour sur l'autre de :
  - 21 γ à 430 γ pour la forme libre,
  - 90 γ à 2 300 γ de folate total.

.../...

Les dosages ont été effectués simultanément par S. Fecalis et ont donné des résultats très différents :

- 61 pour le folate libre,
- 245 pour le folate total.

A.D.F. HURDLE (2), sur des aliments très variés et cuits, en utilisant L. Casei, dose l'acide folique libre et trouve des résultats très voisins :

- régime de 8 jeunes gens bien portant : 223 γ/j (161-297),
- régime de 16 personnes âgées vivant chez elles : 145 γ/j (95-251).

Ces deux études viennent confirmer les déterminations faites précédemment par BUTTERWORTH (3).

D'autres études ont donné les résultats suivants :

- DENKO et coll. 1946 : 67 γ/j
- JANDL et LEAR 1956 : 1 000 à 1 500 γ/j
- JUKES 1961 : 400 γ/j

Il paraît donc possible de dire que l'alimentation quotidienne apporte entre 150 et 200 γ/j d'acide folique libre, et 600 à 800 γ/j d'acide sous forme conjuguée, ce qui, dans des circonstances normales, couvre très largement les besoins.

TENEUR DES ALIMENTS EN ACIDE FOLIQUE (4)

100 g contiennent

		Acide folique	
		avant traitement fermentaire	après traitement fermentaire
		mg	mg
Foie :	boeuf, veau	0,04 - 0,1	26 - 52
	extrait	2 - 4,2	90
	porc, autolysé	0,045 - 0,4	
	concentré	3,4	
Reins		0,03 - 0,04	
Muscles :	boeuf, veau, porc	0,01 - 0,03	
Cervelle :	boeuf	0,01	

.../...

100 g contiennent		Acide folique avant traitement fermentaire (mg)	Acide folique après traitement fermentaire (mg)
Oeuf		0,09	
Chou chinois		0,02 - 0,2	0,14 - 0,5
Carottes :	racine	0,04	0,09
	feuilles	0,3	0,06
"Chard"		0,38	0,42
Asperge		0,5	40,7
Pommes de terre		0,1	0,15
Grain de blé		0,05 - 0,13	0,1 - 0,18
Levure :	extrait	0,1 - 0,35	20 (moyenne)
	concentré	1,26 - 4,8	25 - 767

II - ABSORPTION INTESTINALE DE L'ACIDE FOLIQUE -

1/- L'acide folique donné par voie buccale chez l'homme est absorbé rapidement et à peu près complètement dans l'intestion ; mais il faut faire une distinction entre la forme libre et la forme conjuguée, quant à la vitesse et aux mécanismes d'absorption.

Elle se fait essentiellement dans la partie haute de l'intestin grêle :

- 40 % sont absorbés dans le duodéno-jéjunum,
- dans l'iléon, l'absorption est de 60 % de celle observée dans le duodéno-jénunum (5).

2/- Janet PERRY et CHANARIN (6) ont étudié les différences qui existent entre l'absorption des formes libres et conjuguées.

Ils ont administré à cinq membres bien portant choisis parmi le personnel de leur laboratoire des quantités équimoléculaires de PtGlu et PtGlu7.

.../...

Des échantillons de sang sont prélevés avant, puis toutes les heures après ingestion d'acide folique. Ils constatent que le pic sérique apparait plus rapidement avec PtGlu (1ère heure) et seulement à la 3ème heure avec PtGlu7. L'excrétion urinaire mesurée à la 6ème heure est très supérieure pour PtGlu : 216 γ contre 5 γ pour PtGlu7.

Après ingestion de doses orales poursuivies pendant des mois, les auteurs étudient la contenance des hématies en folate en effectuant un dosage tous les mois. Ils observent une lente montée après 2 mois puis un plateau à 45 % de la valeur initiale avec PtGlu alors qu'avec PtGlu7 il n'est que de 16 %. Il se produit une baisse lente après 3 mois suggérant l'existence d'une utilisation du contenu cellulaire.

Chez des malades atteints d'anémie mégaloblastique par déficit en acide folique les résultats thérapeutiques obtenus sont meilleurs avec PtGlu.

Les auteurs en concluent que la forme conjuguée est utilisée trois fois moins que la forme libre par l'homme.

3/- Mécanisme d'absorption :

a)- BURGEN et GOLBERG (5) étudient l'absorption de l'acide folique par perfusion d'un segment proximal d'iléon de rat. 40 % de la quantité contenue dans le liquide de perfusion sont absorbés. Mais si l'on augmente la teneur en acide folique du liquide de perfusion, la quantité absorbée diminue. Les auteurs estiment qu'il existe un système de transport actif de grande capacité. L'absorption maximale serait de 8 mg/kg/j.

b)- Les effets hématologiques et les taux d'excrétion sensiblement identiques pour PtGlu et pour la forme conjuguée amènent ROSENBERG et coll. (7) à envisager la présence d'enzymes déconjugants dans la muqueuse intestinale qui réaliseraient l'hydrolyse de la forme conjuguée avant ou pendant l'absorption. Ils étudient l'absorption de folates conjugués purifiés à partir de levures :

b-1/- Chez l'homme, le pic sérique apparait 2 à 4 heures après ingestion. L'action des enzymes sur le sérum ne donne pas de supplément d'activité : l'acide folique sérique est donc entièrement constitué par la forme libre.

b-2/- Sur des préparations de poches de muqueuse intestinale de rat, ils constatent, qu'après incubation, la concentration en PtGlu s'égalise entre le liquide contenu dans la lumière et le liquide du milieu extérieur : seul l'acide folique libre traverse la membrane.

.../...

b-3/- Les auteurs font agir un homogénéisat de muqueuse de rat sur une solution de folate conjugué et constate que le maximum d'activité se situe à pH 4,6 et que la température optimale est de 37°.

b-4/- Ils répètent la même expérience sur des homogénéisats de muqueuse humaine prélevés au cours d'interventions chirurgicales. Les résultats sont identiques à ceux obtenus avec de la muqueuse de rat.

Ces expériences n'éliminent pas, malgré tout, la possibilité d'existence d'autres sites d'hydrolyse.

c)- JOHNSON, étudiant en microscopie électronique la bordure en brosse des villosités, démontre que les enzymes sont situés à la surface des microvillosités, en particulier, il existe un enzyme actif sur les polysaccharides ou "fuzz". Les substrats des formes conjuguées de l'acide folique, de nature mucopolysaccharidique peuvent être dégradés par ce "fuzz" et les folates entrent en contact avec la membrane. Les produits sont ensuite absorbés par la membrane de la villosité (8).

d)- <u>Nature du mécanisme de transport de l'acide folique à travers la muqueuse intestinale.</u>

- HEPNER suggère qu'il s'agit d'un mécanisme actif, mais MATTY et BLAIR (9) s'appuyant sur les arguments suivants :

- seules les solutions neutres sont transportées à travers la barrière lipidique,

- la molécule d'acide folique, bien que plus petite, serait transportée activement alors que la molécule de Vit. B 12, plus grosse, est transportée passivement,

pensent que l'acide folique ne passe pas à travers les pores des cellules mais à travers la barrière lipidique, en solution neutre.

Il s'agirait, selon eux, d'un transport passif dont la vitesse maximum serait déterminée par la solubilité et le degré d'ionisation de la vitamine au contact de la muqueuse.

En fait, il existerait à la fois un mécanisme actif et un mécanisme passif d'absorption :

- actif s'il s'agit de petites quantités dans la portion haute de l'intestin,

- passif s'il existe des doses importantes, sur toute la longueur de l'intestin et vraisemblablement identique partout.

Ces faits, prouvés chez le rat, sont vraisemblables chez l'homme (V. HERBERT - 10).

.../...

e)- Folémie et stockage de l'acide folique.

Le maintien d'un taux constant d'acide folique dans le sang est non seulement sous la dépendance des stocks hépatiques mais est aussi influencé par les apports alimentaires. Il semble que l'acide folique alimentaire vient déplacer l'acide folique hépatique (11).

Par ailleurs, l'acide folique est stocké dans les hématies sous forme conjuguée. La création d'un déficit expérimental avec anémie mégaloblastique nécessite environ 4 mois de régime carencé (durée de vie des hématies) ce qui amène à penser que les hématies ne libèrent l'acide folique qu'elles contiennent qu'à leur mort et ne sont remplacées par des hématies déprimées en folate qu'à ce moment (12).

f)- Excrétion dans la bile (13).

La bile est recueillie par aspiration et on prélève en même temps des échantillons de sang. Dans tous les cas, le taux biliaire d'acide folique est supérieur au taux sérique.

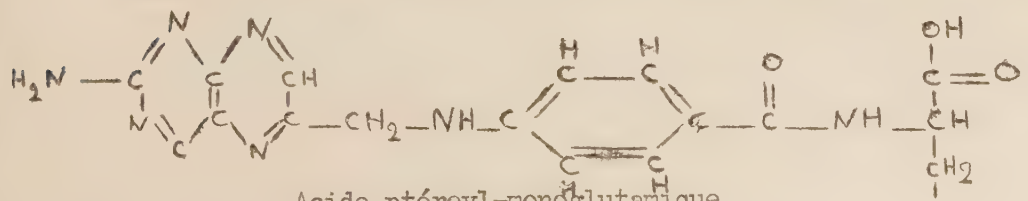
Chez un malade cholécystectomisé et pourvu d'un drain en T on fait une injection intra-veineuse d'acide folique. On compare les taux biliaires et sériques avant et après injection. Les taux sériques s'élèvent en premier, puis le taux biliaire s'élève à un niveau nettement supérieur.

L'acide folique est déversé par le foie dans le sang et sécrété dans la bile à une très haute concentration. L'excrétion est identique à ce qui se passe pour la vitamine B 12 et fait penser qu'il existe pour l'acide folique un cycle entérohépatique. Chez les diarrhéiques et les personnes atteintes de malabsorption : cette excrétion biliaire est peut-être l'un des mécanismes entraînant une déplétion en acide folique.

III - CHIMIE (14) -

1/- Structure :

L'acide folique est une substance contenant une ptéridine liée à l'acide para-aminobenzoïque et à l'acide glutamique comme le montre la formule :



Acide ptéroyl-monoglutamique
$C_{19}H_{19}O_6N_7$

Acide N-[4-{[(2-amino-4-hydroxy-6-ptéridyl)méthyl] aminobenzoyl}-glutamique

.../...

L'acide folique existe dans les tissus animaux et végétaux sous forme de conjugués contenant plusieurs acides glutamiques.

L'acide ptéroyltriglutamique ($PtGlu_3$) dans lequel les acides glutamiques sont fixés sur les liaisons des gamma peptides, a été isolé à partir d'une culture de Corynebacterium. Ce conjugué semble être la forme la plus répandue dans les bactéries et a été identifié dans le Clostridium acidi urici, le Cl. cylindrosporum et le colibacille. Le ptéroylheptaglutamate ($PtGlu_7$) s'est avéré être le dérivé principal de l'acide folique dans la levure et a reçu le nom de vitamine Bc conjuguée. Enfin, des conjugués contenant de la glycine, de la sérine et de l'alanine ont été trouvés dans le Cl. cylindrosporum.

2/- Réduction :

Une des principales caractéristiques chimiques de l'acide folique est la réductibilité du noyau ptéridine ; en effet, la fraction pyrazine de ce noyau peut être facilement réduite par voie chimique ou enzymatique pour donner des dérivés dihydro ou tétrahydro.

Les modifications caractéristiques du spectre d'absorption observées au cours de la réduction permettent de mesurer par spectrométrie, les réactions de réduction enzymatique ou chimique.

L'acide folique est réduit par voie catalytique en solution alcaline et donne alors l'acide 7,8 dihydrofolique alors qu'en solution neutre il donne l'acide 5, 6, 7, 8 - tétrahydrofolique. La réduction par SO_4Na_2 en présence d'ascorbate à pH6, donne l'acide 7,8 - dihydrofolique (H_2PtGlu) à la température de la chambre, le H_4PtGlu à 60°. Ce dernier acide, préparé par voie chimique contient un centre asymétrique en position 6 ; un seul de ces deux diastéréoisomères, le 1-L-tétrahydrofolate, est actif.

Pour l'acide dihydrofolique, à la suite des études de la résonnance nucléaire et aussi à cause de la facilité d'une nouvelle réduction pour former l'acide tétrahydrofolique, on préfère la structure 7,8 dihydro à la structure 5,8 dihydro.

L'acide tétrahydrofolique est facilement oxydé par l'oxygène de l'air en acide folique, mais cette réduction en solution acide donne jusqu'à 40 % d'acide P-aminobenzoylglutamique (PABGlu).

La réduction de l'acide folique en solution acide affecte le noyau pyrazinique et, en outre, supprime la liaison C^9N^{10} pour donner de la ptéridine réduite et du PABGlu. La formation de l'amine est quantitative et peut donc être utilisée pour le dosage chimique de l'acide folique. Il semble que l'acide tétrahydrofolique soit stable en solution acide et que la liaison déjà mentionnée (C^9N^{10}) se rompt pour donner du PABGlu.

.../...

3/- Formes actives de l'acide folique au point de vue métabolique :

L'acide folique, comme beaucoup de vitamines, est un précurseur d'un coenzyme intéressé dans les réactions enzymatiques.

L'action des coenzymes foliques est tout d'abord intéressée dans le transfert des unités à un carbone aux niveaux d'oxydation du formate, du formaldéhyde et du méthanol et dans la transformation de ces derniers d'une étape oxydative en une autre.

a)- Acide N^{10}-formyltétrahydrofolique (10-CHO-H_4PtGlu).

Ce dérivé se rapproche du H_4PtGlu par sa sensibilité envers l'oxygène moléculaire.

Il existe à la fois dans les tissus animaux et végétaux ; on l'a identifié comme un des constituants mineurs du foie de la souris et du poulet. Son produit d'oxydation, le 10-CHO-PtGlu, a été trouvé dans le foie autolysé de cheval, mais il semble qu'il est également présent dans les tissus végétaux car il a été identifié dans les aliments. Il a aussi été trouvé dans l'urine humaine.

Le groupe formyl se trouve à l'état activé et peut être utilisé dans les réactions de formylation enzymatique . Le delta-F du groupe formyl a été estimé à 6 000 calories.

b)- Acide N^5-formyltétrahydrofolique (5-CHO-H_4PtGlu).

Cet acide représente le premier dérivé de l'acide tétrahydrofolique métaboliquement actif reconnu et a été découvert en tant que facteur de croissance de leuconostoc citrofavorum (P. Cervisiae). Ce dérivé, appelé aussi "citrovorum factor", "leucovorine" et acide folinique, n'est pas affecté par l'oxygène atmosphérique car le noyau pyrazine y est stabilisé grâce à la présence d'un substitué sur le groupe azote-5.

Préparé par voie synthétique, on obtient un mélange de deux diastéréoisomères dont un seul, la forme 1-L est biologiquement active.

L'énergie d'hydrolyse du groupe formyl est de moins de 2 000 calories c'est-à-dire qu'elle est notablement plus basse que celle du 10-CHO-H_4PtGlu.

Il n'existe pas dans le foie frais et ne s'y forme qu'après une autolyse prolongée. Sa stabilité envers l'oxydation contraste avec celle des autres dérivés tétrahydro. Stable en solution neutre et alcaline, en solution acide il est transformé en anhydroleucovorine (5,10-CH=H_4PtGlu) par élimination d'eau.

c)- Acide N^5, N^{10}-méthènyltétrahydrofolique (5,10-CH=PtGlu).

Ce dérivé contient un groupe formyl potentiel. Il est formé en solution acide à partir de 5-CHO-H_4-PtGlu ou de 10-CHO-H_4-PtGlu. Cette réaction aboutit aussi à la formation d'un ion onium à charge positive qui contribue fortement à sa stabilité en milieu acide fort. Il se produit un déplacement marqué du maximum d'absorption de 290 mμ à 355 mμ tout à fait caractéristique de l'anhydroleucovorine et peut être utilisé pour le dosage quantitatif de ce produit ainsi que pour le dosage de 5-CHO-H_4-PtGlu et de 10-CHO-H_4-PtGlu après transformation de ces produits en leucovorine par action d'un acide à pH 2.

L'anhydroleucovorine n'est pas active pour P. Cerevisiae au cours de l'essai de routine, mais est active pour L. Casei et S. Fecalis. Elle est aussi active que la leucovorine pour P. Cerevisiae lorsqu'elle est testée après addition aseptique à un milieu contenant de l'ascorbate et stérilisé au préalable.

L'énergie d'hydrolyse du groupe formyl est estimé à - 7 500 calories.

d)- Acide N^5-formiminotétrahydrofolique (5-CHNH-H_4PtGlu).

Ce dérivé ne possédant qu'une seule unité carbone au stade d'oxydation du formate a été découvert lors des recherches portant sur la dégradation biologique des purines et de l'histidine.

L'acide tétrahydrofolique réagit par voie enzymatique avec soit la formiminoglycine, dérivée des purines, pour donner le 5-CHNH-H_4PtGlu et soit de la glycine, soit de l'acide glutamique respectivement. L'acide formimino tétrahydrofolique peut être transformé en 5,10-CH=H_4PtGlu et ammoniac, soit par HCl 0,1 N soit par l'enzyme cyclodéaminase.

$$5\text{-CHNH-}H_4\text{PtGlu} \xrightarrow{\text{cyclodéaminase}} 5,10\text{-CH=}H_4\text{PtGlu} + NH_3$$

On pense que le groupe formimino est situé sur l'azote 5 à cause de la stabilité de ce dérivé de l'acide tétrahydrofolique envers l'oxydation de l'air.

e)- Acide N^5-N^{10}-méthylènetétrahydrofolique (5,10-CH_2=H_4PtGlu).

Dans ce dérivé, l'unité à carbone unique est au niveau de la formaldéhyde au cours de l'oxydation. Il a été étudié, pour la première fois, comme produit de la réaction enzymatique de la sérine avec le H_4PtGlu. Il est probable qu'il existe un équilibre entre la forme 5,10 et l'acide 5 ou 10 hydroxyméthyltétrahydrofolique (CH_2OH-H_4PtGlu) puisque la formaldéhyde peut être rapidement enlevée par distillation ou par l'action des réactifs qui le fixent. Sa stabilité envers l'oxygène se situe entre celle de H_4PtGlu et de 5-CHO-H_4PtGlu.

.../...

f)- Acide N^5-méthyltétrahydrofolique ($5\text{-}CH_3\text{-}H_4PtGlu$).

DONALDSON et KERESZTESY (15) ont isolé, à partir du foie frais, une forme d'acide folique active sur L. Casei et inactive sur S. Fecalis. Le nom d'acide préfolique lui a été donné parce qu'une autolyse prolongée du foie transformait cette substance en acide folique.

On a constaté qu'il s'agissait d'un dérivé de l'acide tétrahydrofolique fonctionnant comme un intermédiaire au cours de la synthèse de la méthionine par le colibacille. Le groupe méthylé est attribué à la position 5 N à cause de la stabilité du produit envers l'oxygène et aussi parce que le $10\text{-}CH_3\text{-}H_4PtGlu$ est biologiquement actif dans les systèmes qui répondent à l'acide préfolique.

La fonction principale de ce dérivé est de servir d'agent de méthylation dans la synthèse de la méthionine à partir de l'homocystéine. Il est formé dans les tissus par réduction enzymatique de $5,10\text{-}CH_2\text{=}H_4PtGlu$ par le $FADH_2$.

$$5,10 - CH_2 = H_4PtGlu + FADH_2 \rightarrow 5CH_3 - H_4PtGlu + FAD$$

4/- Réactions enzymatiques intéressant les coenzymes de l'acide folique :

Les travaux anciens sur la nutrition bactérienne ont rattaché l'acide folique à la synthèse des purines et de la thymine et à la transformation de l'homocystéine en méthionine, ce qui permit de supposer que l'acide folique jouait un rôle dans le métabolisme des unités à un seul carbone. Ultérieurement, on a constaté que les coenzymes de l'acide folique jouent un rôle dans les réactions de transformation des groupes à carbone unique en purines, pyrimidines, sérine, glycine, histidine et méthionine.

a)- Réactions d'oxydo-réduction des dérivés de l'acide folique.

L'acide folique ne participe au transfert du carbone unique que dans les formes tétrahydro.

Les enzymes capables de réduire l'acide folique (réductase de l'acide folique) ou l'acide dihydrofolique (réductase de l'acide dihydrofolique) pour les transformer en forme tétrahydro existent dans les tissus animaux et bactériens.

Les extraits de tissus sont plus actifs dans la réduction de l'acide dihydro, que dans la réduction de l'acide folique.

Le NADPH ou le NADH peuvent servir de donneurs d'électrons.

Le NADH est généralement plus actif.

$$H_2PtGlu + NADPH + H^+ \xrightarrow{\text{dihydrofolate réductase}} H_4PtGlu + NADP^+$$

a-1/- Réductase de l'acide dihydrofolique -

Cette réductase a été extraite à partir de foie de poulet et de mouton, de thymus de veau ainsi que du S. Fecalis.

Celle provenant du foie de pouelt réduit le dihydrofolate plus rapidement que le folate. Le foie de poulet ne contient ni flavine, ni hème.

Cependant, la réductase du dihydrofolate provenant du foie de mouton, plus active pour l'acide folique semble être une flavoprotéine et est activée par le FMN.

Il existe une très grande affinité des antagonistes de l'acide folique pour la réductase, ce qui a permis de les désigner comme antagonistes non réversibles. L'acide folique lui-même peut fonctionner comme un inhibiteur compétitif du dihydrofolate lors de la réduction à une concentration assez élevée. Ceci suggère qu'il existe un lieu d'action commun pour le folate et le dihydrofolate.

a-2/- Réductase de l'acide folique -

WRIGHT et coll. (16) ont trouvé un enzyme qui réduit uniquement l'acide folique pour former l'acide dihydrofolique dans le Clostridium stickandii.

L'enzyme est indépendant de NADH. Seul H_2PtGlu est formé.

$$\text{PtGlu} + \text{pyruvate} + \text{HSCoA} \longrightarrow H_2\text{PtGlu} + \text{CoA acétylé} + CO_2$$

Un enzyme plus actif a été isolé à partir du foie de mouton, il s'agit d'une flavoprotéine.

a-3/- Déhydrogénase de 5,10-méthylènetétrahydrofolate et réductase -

L'enzyme intéressé dans l'interconversion entre l'étape formaldéhyde et formate de l'oxydation est appelé 5,10-méthylènetétrahydrofolate déhydrogénase. L'enzyme combiné à NADP a été isolé à partir des cellules de la tumeur ascitique d'Ehrlich. Elle nécessite la présence de magnésium ou de manganèse contrairement aux autres enzymes combinés à NADH qui ne nécessitent pas la présence de métaux.

.../...

La formation de méthyl tétrahydrofolate à partir de 5,10-méthylènetétrahydrofolate est catalysée par l'enzyme flavoprotéine :

$$5,10\text{-}CH_2 = H_4PtGlu + FADH_2 \rightarrow 5\text{-}CH_3\text{-}H_4PtGlu + FAD$$

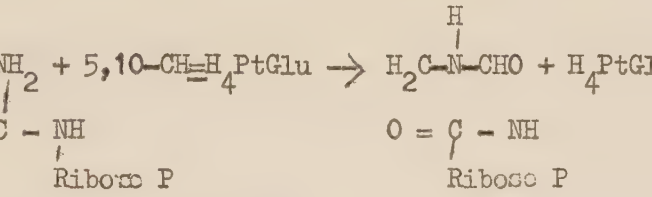
La réaction inverse, catalysée par l'enzyme, nécessite la présence de ménadione comme récepteur d'électrons.

$$5\text{-}CH_3\text{-}H_4PtGlu + \text{Ménadione} \xrightarrow{FAD} 5,10\text{-}CH_2 = H_4PtGlu + \text{Ménadione } F$$

b)- Synthèse de la purine.

La résolution des systèmes enzymatiques intéressés dans la formation de la purine a montré que l'acide folique intervient dans l'introduction des carbones en position 2- et 8- du noyau de la purine.

Les premières étapes comportent l'introduction d'un carbone 8- par formylation de la glycinamide-ribotide sous l'action du 5,10-CH=H_4PtGlu, ce qui donne le ribotide formylglycinamide. Le groupe formyl se condense ultérieurement avec l'azote de l'amide pour donner un noyau imidazole et devient ainsi le carbone 8 du noyau purique final.



La deuxième réaction comporte la formylation de la ribotine aminoimidazolecarboxamide par le 10-CHO-H_4PtGlu ce qui donne le ribotide formylaminoimidazolecarboxamide. Ce dernier se condense ensuite pour donner l'acide inosinique.

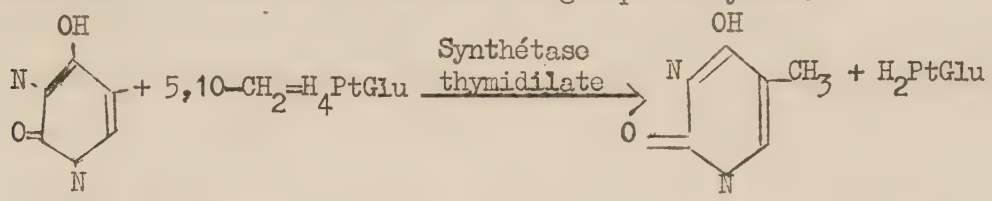
c)- Synthèse de la pyrimidine.

L'acide folique ne joue pas dans la synthèse du noyau pyrimidine mais est intéressé dans la biogénèse du groupe méthyl de la thymine et du groupe hydroxyméthyl de la 5-hydroxyméthylcytosine.

Dans ces deux réactions, l'intermédiaire de l'acide folique est le 5,10-CH_2=H_4PtGlu.

.../...

Au cours de la synthèse de la thymine, la réduction du groupe méthylène est accompagnée par une oxydation concomitante de H_4PtGlu en H_2PtGlu. Le $5,10{=}CH_2{-}H_4PtGlu$ sert à la fois comme source de groupe à carbone unique et comme source des deux hydrogènes intéressés dans la réduction ultérieure du groupe méthylène.



acide déoxyuridilique — acide thymidilique

Le dihydrofolate qui en résulte doit être réduit par le NADPH et le réductase-dihydrofolate pour former le H_4PtGlu avant que celui-ci ne puisse participer à nouveau à la synthèse du thymidilate.

L'acide folique est aussi intéressé dans la synthèse de l'acide 5-hydroxyméthyldéoxycytidylique par le colibacille infecté par le phage. Il est à noter qu'au cours de cette réaction, on constate le transfert d'un groupe hydroxyméthyl mais qu'il n'y a pas d'oxydation concomitante de H_4PtGlu en H_2PtGlu comme au cours de la synthèse du thymidilate.

d)- Métabolisme des acides aminés.

d-1/- Conversion réciproque sérine-glycine -

On a observé, depuis longtemps, que le β-carbone de la sérine peut servir de source d'unités à carbone unique et que la réaction de la sérine avec un tétrahydrofolate donne lieu à la formation d'un dérivé de l'acide folique contenant un formaldéhyde actif.

La réaction de transformation de la sérine en glycine est catalysée par la sérine transhydroxyméthylase. Cet enzyme a été isolé à partir du foie de lapin. Il requiert, pour développer son activité, la présence de phosphate de pyridoxal et n'est pas activé par la présence d'ions métalliques.

d-2/- Biosynthèse du groupe méthyle de la méthionine -

La preuve du rôle de l'acide folique dans la biosynthèse du groupe méthyle a été fournie, lorsque l'on a constaté que les rats sont capables d'utiliser l'homocystine au lieu de la méthionine quand on ajoute de l'acide folique au régime.

La réaction première consiste en une méthylation de l'homocystéine en méthionine par le 5-CH_3-H_4PtGlu. Le groupe méthyl-5 est formé par la réduction de 5,10-CH_2=H_4PtGlu sous l'influence de la réductase de l'acide 5,10-méthylènetétrahydrofolique.

Deux groupes de rédactions distinctes peuvent intervenir au cours des réactions de transfert des groupes méthylés :

- la première réaction nécessite la présence de cobalamine : les dérivés tétrahydro de l'acide folique ou du conjugué triglutamique peuvent fonctionner comme coenzymes. Les cofacteurs nécessaires comportent le $FADH_2$, la S-Adénosylméthionine et la vitamine B 12.

- la deuxième, ne comporte pas de cobalamine et ne fonctionne qu'avec des conjugués de l'acide folique tels que H_4PtGlu. L'enzyme diffère de celui de la réaction précédente en ce qu'il nécessite la présence, en tant qu'activateur, du seul ion magnésium.

d-3/- Formiminoglycine et acide formiminoglutamique -

Ils réagissent avec le tétrahydrofolate pour donner le 5-formiminotétrahydrofolate et la glycine ou l'acide glutamique.

Les enzymes triglutamates et monoglutamates ont la même activité sur la formiminoglycine en présence de glycine-formiminotransférase. Le formiminotétrahydrofolate est converti par l'enzyme cyclodéaminase pour donner le 5,10-CH=H_4PtGlu, hydrolysé à son tour pour donner le 10-CHO-H_4PtGlu sous l'influence de la cyclohydrolase. Le 10-CHO-H_4PtGlu régit à son tour avec l'ADP et le phosphate pour donner de l'ATP et H_4PtGlu. L'enzyme, tétrahydrofolateformylase qui catalyse la réaction 3 se trouve en quantité importante dans les organismes capables de faire fermenter les purines (3 %) et cette réaction semble jouer un rôle important en tant que système générateur d'ATP inta-cellulaire.

(1) $$\begin{array}{l} COOH \\ | \\ CH_2\text{-}NH\text{-}C\text{=}H \\ \quad\quad\quad | \\ \quad\quad\quad H \end{array} + H_4PtGlu \xrightarrow[\text{forminotransférase}]{\text{glycine}} \begin{array}{l} COOH \\ | \\ CH_2\text{-}NH_2 \end{array} + 5\text{-}CH\text{=}NH\text{-}H_4PtGlu$$

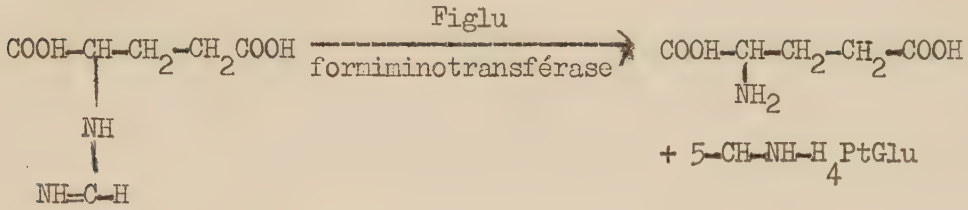
(2) $$5\text{-}CH\text{=}NH\text{-}H_4PtGlu \xrightarrow{\text{cyclodéaminase}} 5,10\text{-}CH\text{=}H_4PtGlu + NH_3$$

(3) $$10\text{-}CHO\text{-}H_4PtGlu + ADP + P \longrightarrow H_4PtGlu + HCOOH + ATP$$

.../...

L'acide forminoglutamique est un intermédiaire de la dégradation de l'histidine animale.

L'acide forminoglutamique réagit avec le H_4PtGlu pour donner de l'acide glutamique et le forminotétrahydrofolate. Le forminotétrahydrofolate subit ensuite les mêmes transformations que celles décrites pour la forminoglycine.



Dans le cas de carence en acide folique, le catabolisme du Figlu est perturbé, et, on note une augmentation importante de son excrétion, notamment chez l'homme.

Lorsqu'on augmente le taux d'histidine dans le régime, l'excrétion du Figlu augmente. LUHBY a utilisé cette constatation pour élaborer un test diagnostique de la carence en acide folique chez l'homme, le Figlu urinaire étant dosé après une dose de charge d'histidine.

Bien que l'acide folique soit le seul coenzyme connu, directement intéressé dans la conversion du Figlu en acide glutamique, un déficit en vitamine B 12 augmente, lui aussi, l'excrétion de Figlu, mais cette augmentation est moins marquée que celle observée au cours du déficit en acide folique. Il est prouvé que le méthionine et la vitamine B 12 accélèrent l'utilisation du Figlu en augmentant l'efficience de l'acide folique.

En effet, l'équilibre de la réaction de réduction du $5,10\text{-}CH_2\text{=}H_4PtGlu$ en $5\text{-}CH_3\text{-}H_4PtGlu$ se fait en faveur du dérivé méthylé. Avant que H_4PtGlu puisse être reformé, il est nécessaire que le groupe méthylé disparaisse, et ce, par trasméthylation par l'homocystéine.

HERBERT et ZALUSKY (17) ont constaté, au cours de l'anémie pernicieuse, une augmentation de $5\text{-}CH_3\text{-}H_4PtGlu$ dans le plasma qui cède après apport de Vit. B 12. Ils ont émis une théorie d'après laquelle le 5-méthylétrahydrofolate s'accumule par suite de la diminution de la transméthylation aboutissant à une diminution du tétrahydrofolate disponible pour les autres processus métaboliques.

.../...

Le rôle de la méthionine peut consister en ce qu'elle fournit une quantité accrue d'homocystéine puisque le groupe méthyle de la méthionine est rapidement oxydé dans un système ne dépendant pas de l'acide folique.

d-4/- Hydroxylation de la phénylalanine en tyrosine -

La phénylalanine est hydroxylée par l'oxygène en tyrosine au cours d'une réaction faisant intervenir la ptéridine comme cofacteur. L'acide tétrahydrofolique peut servir de cofacteur mais est moins actif que la bioptérine non conjuguée qui est le cofacteur essentiel dans le foie de rat. Il est transformé en 7,8-H_2PtGlu.

NAGATSU et coll. (18) ont constaté le rôle des cofacteurs de la ptéridine dans les réactions d'hydroxylation comportant l'oxydation de la tyrosine en 3,4-dihydrophénylalanine.

f)- Réactions de formylation de l'acide tétrahydrofolique.

f-1/- Tétrahydrofolate formylase -

Le formate doit être activé pour participer aux réactions de formylation dépendant de l'acide folique comme celles qui sont concernées au cours de la biosynthèse de la purine. La formation de 10-CHO-H_4PtGlu à partir de H_4PtGlu et de formate nécessite de l'ATP comme source d'énergie. Elle est catalysée par l'enzyme tétrahydrofolate formylase. Cet enzyme a été obtenu à partir de foie de poulet, de pigeon, de mouton, de Micrococcus aerogenes et de Clostridium cylindrosporum.

f-2/- Isomérisation de 5-CHO-H_4PtGlu en 10-CHO-H_4PtGlu -

Le groupe formyl de 5-CHO-H_4PtGlu, à cause de son énergie d'hydrolyse basse, ne participe pas au transfert du formate au cours de la synthèse des purines. Il est converti en 10-CHO-H_4PtGlu par activation par l'ATP. Cette conversion se fait en deux étapes :

$$5\text{-CHO-}H_4\text{PtGlu} + \text{ATP} + H^+ \xrightarrow{\text{cyclodéhydrase}} 5,10\text{-CH=}H_4\text{PtGlu} + H_2O + \text{ADP} + \text{P}$$

$$5,10\text{-CH=}H_4\text{PtGlu} + H_2O \xrightarrow{\text{cyclohydrolase}} 10\text{-CHO-}H_4\text{PtGlu} + H^+$$

.../...

f-3/- Formylation de l'acide glutamique -

L'acide glutamique est formylé par le 5-CHO-H_4PtGlu. La réaction inverse peut représenter une fonction importante dans le métabolisme du formate, puisque le formyglutamate est un produit d'oxydation du glyoxylate et de la glycine. Il représente donc un intermédiaire au cours de la conversion de l'alpha-carbone de la glycine en formate actif.

$$\text{Glutamate} + 5\text{CHO-}H_4\text{PtGlu} \underset{\text{transformylase}}{\overset{\text{glutamate}}{\rightleftharpoons}} \text{formyglutamate} + H_4\text{PtGlu}$$

g)- Effet de la carence en acide folique sur l'oxydation du formate.

L'oxydation du formate en gaz carbonique est réduite in vivo et in vitro, en même temps que l'élimination du formate est augmentée. Cette excrétion est encore accrue, lorsqu'on ajoute du tryptophane au régime, mais pas si l'on ajoute de l'histidine. Cela montre que la transformation de la formylkynurénine en kynurénine, n'est pas une réaction dépendant de l'acide folique.

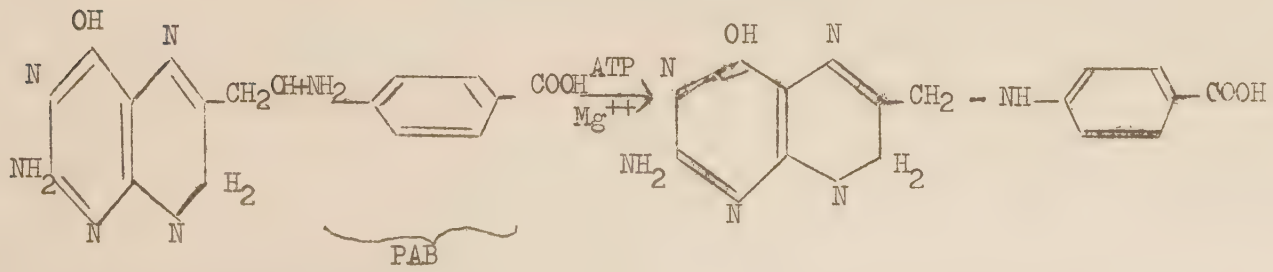
La conversion du groupe méthyle de la méthionine en formate est augmentée de 3 ou 4 fois au cours de la carence en acide folique. Cette oxydation se fait donc sans intervention de l'acide folique.

5/- Biogénèse :

WOODS et Coll. (19) ont montré que le PAB et certaines ptéridines augmentent la production de l'acide folique par les cellules au repos d'une souche de staphylocoques dorés sulfamido-résistants.

Des études détaillées faites sur des extraits acellulaires de colibacilles effectuées par BROWN et coll. (20), ainsi que par JAENICKE et CHAN permettent d'envisager les séquences suivantes présidant à la biosynthèse de l'acide folique :

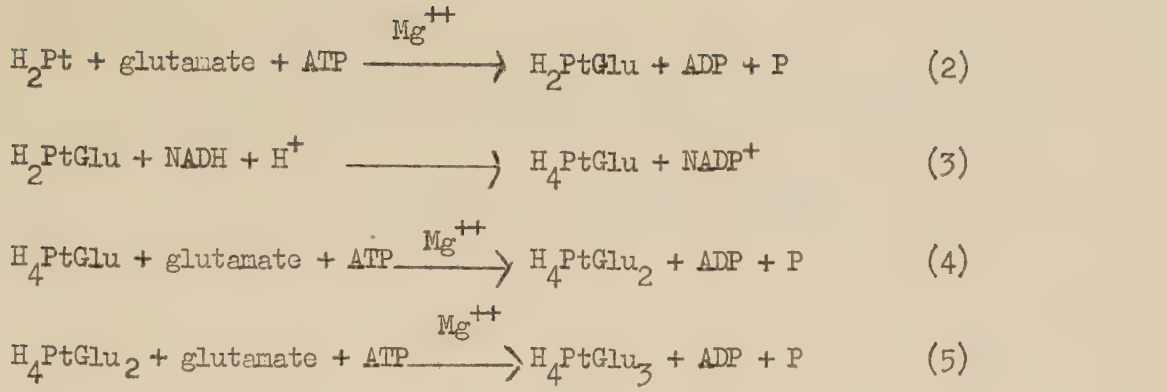
(1)



2 amino - 4 hydroxy - 6 hydroxyméthyldihydroptéridine

acide dihydroptéroïque (H_2Pt)

.../...



$$H_2Pt + \text{glutamate} + ATP \xrightarrow{Mg^{++}} H_2PtGlu + ADP + P \qquad (2)$$

$$H_2PtGlu + NADH + H^+ \longrightarrow H_4PtGlu + NADP^+ \qquad (3)$$

$$H_4PtGlu + \text{glutamate} + ATP \xrightarrow{Mg^{++}} H_4PtGlu_2 + ADP + P \qquad (4)$$

$$H_4PtGlu_2 + \text{glutamate} + ATP \xrightarrow{Mg^{++}} H_4PtGlu_3 + ADP + P \qquad (5)$$

a)- Condensation de la ptéridine avec les acides para-aminobenzoïque et glutamique.

La biosynthèse de l'acide folique est plus marquée avec la forme dihydro de la 2-amino-4-hydroxy-6-hydroxyméthylptéridine qu'avec la forme tétrahydro. Le dihydroptéroate est formé de préférence au tétrahydroptéroate.

La condensation de H_2PtGlu avec le glutamate est spécifique de l'acide dihydroptéroïque. Cet acide ne peut réagir avec les peptides di et tri glutamiques pour former les acidro ptéroyl-di et tri glutamiques correspondants. Les acides folique et dihydrofolique sont inactifs dans la réaction comportant l'addition de nouveaux restes de glutamates. Les conjugués de l'acide folique sont donc formés par addition échelonnée d'acide glutamique dans le colibacille.

b)- Synthèse du noyau ptéridine

WEYGAND et coll. (21) ont été amenés à penser que les ptéridines sont formées à partir de l'acide guanylique par enlèvement du carbone en position 8 suivi d'une condensation avec les carbones 1 et 2 du ribose, ce qui donne un noyau pyrazinique ; il en résulte la formation d'une ptéridine possédant une chaîne latérale fixée au carbone 3.

REYNOLDS et BROWN (22) ont proposé les mêmes étapes pour le colibacille en partant du fait que la production de l'acide folique est stimulée par la guanosine et l'acide guanylique en l'absence de ptéridine surajoutée.

.../...

LES MANIFESTATIONS CLINIQUES

DU DEFICIT EN ACIDE FOLIQUE

La carence en acide folique provoque une atteinte des cellules à différenciation rapide. Le tissu hématopoïétique est le plus sévèrement atteint. L'expression majeure en est l'apparition d'une anémie mégaloblastique avec mégaloblastose médullaire, d'ailleurs inconstante. La langue, le tractus génito-urinaire, la peau (pigmentation, atrophie) souffrent également de ce déficit en acide folique.

L'apparition des méthodes de dosage de l'acide folique dans les produits biologiques, ainsi que l'utilisation du test de charge en histidine, ont amené à reconsidérer la fréquence de cette carence. Si l'anémie mégaloblastique est rare dans les pays dits "pourvus", il n'en est pas de même, semble-t-il, en ce qui concerne les carences frustes sans expression clinique décelable. Très fréquente dans les pays sous-alimentés, elle n'atteint guère, en dehors de circonstances pathologiques particulières, que les personnes âgées vivant seules et les femmes enceintes, sous nos climats.

.../...

A/ - LE ROLE DU LABORATOIRE DANS LE DIAGNOSTIC DES CARENCES EN ACIDE FOLIQUE

La découverte d'une anémie qui ne reconnaît pas d'étiologie évidente doit, désormais, entraîner les examens nécessaires à l'établissement ou à l'élimination du diagnostic de déficit folique.

I - L'ACIDE FOLIQUE -

L'acide folique peut être dosé par voie chimique par des procédés basés, soit sur la réduction chimique donnant une amine diazotable, soit par voie fluorométrique.

Cependant, ces méthodes n'ont pas donné satisfaction lorsqu'on les a appliquées à des produits biologiques et on utilise, de préférence, des méthodes microbiologiques. Néanmoins, ces méthodes sont compliquées étant donné l'existence de conjugués inactifs et d'un grand nombre de formes métaboliques naturelles de l'acide folique possédant des activités variables sur les différents organismes utilisés.

1/- Méthodes chimiques :

Toutes les méthodes chimiques sont basées sur la réductibilité facile de l'acide folique.

Certaines de ces méthodes font appel à l'action de la poudre de zinc en milieu acide qui décompose l'acide folique en ptéridine et acide para-aminobenzoïque. Ce dernier est alors titré par colorimétrie après action de la N (1-naphtyl) éthylènediamine (23).

D'autres font appel à l'action du permanganate de potassium et donnent des dérivés fluorescents qui sont alors dosés par fluorométrie (24, 25, 26).

.../...

2/- Méthodes microbiologiques :

Les trois organsimes couramment utilisés sont :

- Lactobacillus Casei ATCC 7469,
- Streptococcus fecalis ATCC 8043,
- Pediococcus cerevisiae ATCC 8081 (Leuconostoc citrovorum) (27).

Le Tetrahymena gelei pourrait également être utilisé car cet organisme répond aux conjugués supérieurs mais n'a pas été employé largement au cours de l'étude de l'acide folique. Ces organismes différents répondent d'une manière variable aux diverses formes de l'acide folique et peuvent donc être utilisés pour faire la distinction entre les types de l'acide folique présents (Voir tableau p. 22).

Il est à noter que L. Casei répond à la fois à l'acide folique et à son dérivé tétrahydro ; il répond d'ailleurs aux composés plus simples de l'acide folique contenant trois restes ou moins d'acide glutamique, mais non pas aux dérivés supérieurs comme le conjugué de la vitamine Bc.

Le S. Fecalis répond à l'acide folique et au diglutamate, ainsi qu'à leur forme réduite, mais ne réagit pas aux tri et hepta glutamates et aux conjugués supérieurs.

Le P. Cerevisiae, utilisé dans les essais du facteur citrovorum, ne répond qu'aux dérivés tétrahydro, mais non aux formes dihydro ou aux formes non réduites. Bien que cet organisme réagisse à la plupart des dérivés tétrahydro non conjugués, certains de ces derniers, comme le H_4PtGlu, le 10-CHO-H_4PtGlu et le 5,10-CH_2=H_4PtGlu sont rapidement oxydés par l'oxygène atmosphérique et sont donc inactivés, à moins qu'on ne prenne des précautions spéciales pour éviter cette oxydation.

Le facteur citrovorum est stable à l'air puisque la substitution de l'azote stabilise le produit face à l'oxydation atmosphérique.

Grâce au procédé "aseptique + ascorbate" de BAKERMAN, dans lequel l'ascorbate est ajouté au milieu, les échantillons étant ajoutés de façon aseptique, ce dérivé tétrahydro labile devient biologiquement actif.

L'anhydroleucovorine, stable vis-à-vis de l'oxydation en solution acide, se montre inactive dans l'essai de routine avec P. Cerevisiae, devient active lorsqu'on utilise le procédé BAKERMAN.

Il est à noter que le méthyltétrahydrofolate, stable à l'air est aussi actif que l'acide folique pour L. Casei, mais que son activité ne représente que 5 % de celle de l'acide folique pour le S. Fecalis ainsi que 5 % de celle du citrovorum pour le P. Cerevisiae (14).

.../...

ACTIVITE RELATIVE AUX DIVERSES FORMES DE L'ACIDE FOLIQUE

POUR LES ORGANISMES D'ESSAI *

Composé	Streptococcus faecalis	Lactobacillus casei	Pediococcus cerevisiae	Pediococcus cerevisiae (méthode BAKERMAN)	Tetrahymena geleii
Acide folique (PtGlu)	++	+	±	-	+
Acide ptéroyldiglutamique	+	+	-	-	
Acide ptéroyltriglutamique	-	+	-	-	+
Acide ptéroylheptaglutamique	-	-	-	-	+
H_4PtGlu	+	+	-	+	
5-CHO-H_4PtGlu	+	+	+	+	
10-CHO-H_4PtGlu	+	+	-	+	
5,10-CH=H_4PtGlu	+	+	-	+	
5-CH_3-H_4PtGlu	-	+	-	-	
Acide ptéroïque	+	-	-	-	-
10-CHO-Pt	+	-	-		
5-CHO-H_4Pt	+	-	-		

* D'après STOKSTAD et USDIN. Le signe + indique une activité de 70-100 % de l'acide folique (moléculaire) pour le S. faecalis, Lactobacillus casei et le T. geleii, et de 70-100 % de 5-formyl-PH_4 pour le Leuconostoc citrovorum. ± ce signe indique une activité de moins de 5 %.

.../...

3/- Acide folique dans le sang :

La plus grande partie de l'acide folique dans les hématies se trouve sous forme de conjugués, qui ne deviennent actifs qu'après traitement par la conjugase. Le folate du sérum est surtout non conjugué et s'y trouve principalement sous la forme de 5-CH_3-H_4PtGlu. La présence de ce dérivé dans le sérum a été établie par chromatographie.

L'activité est plus importante pour le L. Casei que pour le S. Fecalis. Son activité n'est pas augmentée par le traitement par la conjugase et le spectre des activités est le même que celui de 5-CH_3-H_4PtGlu.

La contenance des hématies en acide folique peut être déterminée après avoir fait agir une préparation enzymatique (28).

Les résultats normaux sont variables selon les laboratoires et un étalonnage doit être fait dans chacun d'eux. Toutefois, les taux physiologiques semblent pouvoir être fixés aux environs de 10 γ/l.

II - L'ACIDE FORMIMINOGLUTAMIQUE -

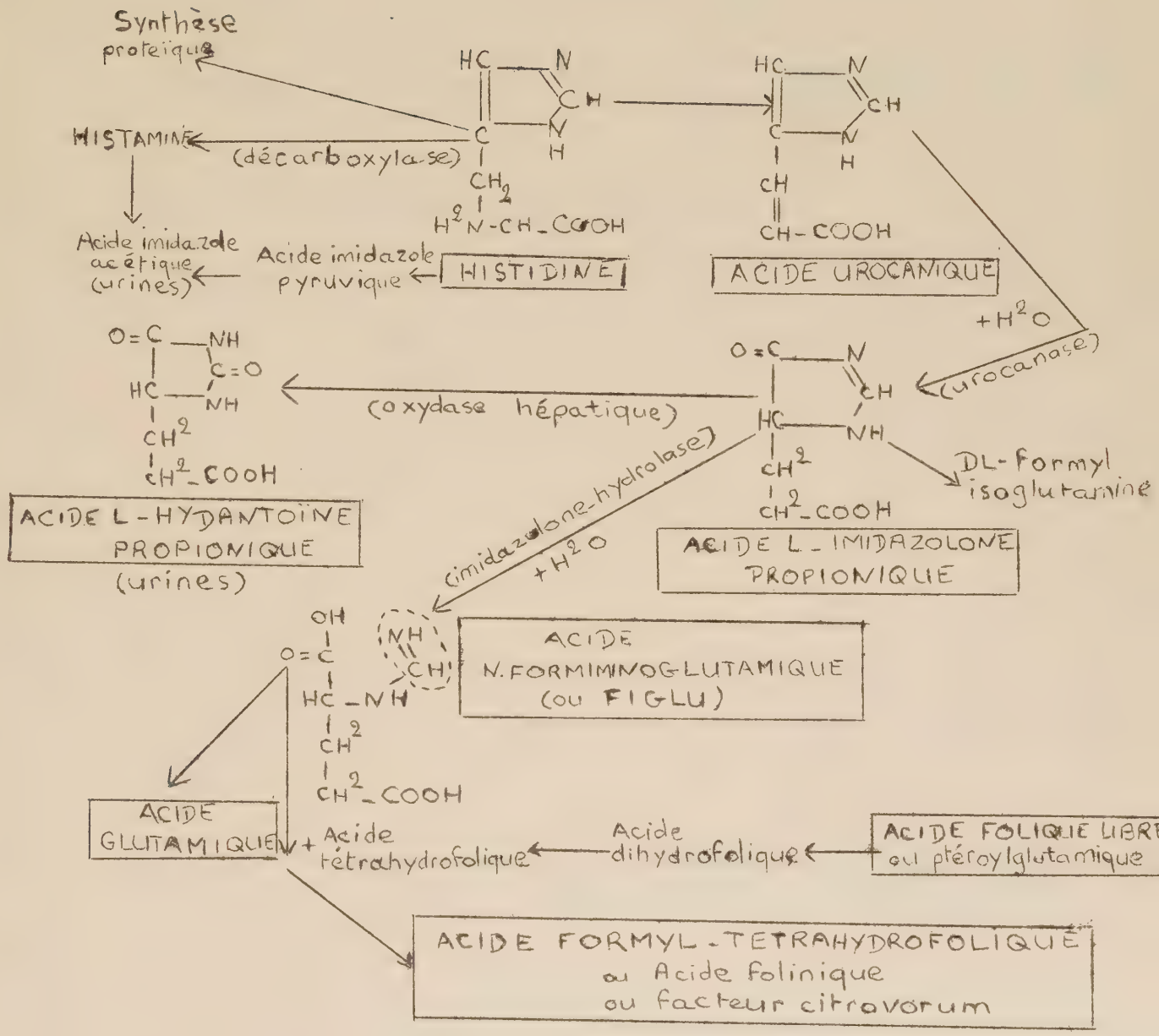
1/- Principe du test de charge en histidine :

L'acide formininoglutamique est un intermédiaire dans la dégradation enzymatique de l'histidine animale. L'acide formininoglutamique réagit avec le H_4PtGlu pour donner de l'acide glutamique et le formininotétrahydrofolate.

Dans les cas de carence en acide folique, ce métabolisme est perturbé et on note une augmentation importante de son excrétion urinaire chez l'homme, encore accentuée lorsque l'on donne préalablement une dose de charge en histidine. (Voir schéma du métabolisme de l'histidine, p. 24).

.../...

METABOLISME DE L'HISTIDINE



.../...

2/- En pratique :

L'épreuve consiste à faire ingérer une dose standard de L-Histidine, très variable selon les auteurs (de 2 à 20 grammes). On recueille les urines après, et pendant un temps différent selon la méthode (5 à 24 heures) et l'on dose la quantité de Figlu présente.

Les taux normaux sont de quelques milligrammes par 24 heures, même après administration d'histidine où ils restent inférieurs à 50 mg. En cas de déficit en acide folique, ce taux s'élève à plus de 100 mg (29).

3/- Méthodes de dosage de l'acide formiminoglutamique :

Il existe de nombreuses méthodes de dosage du Figlu qui peuvent se ramener à quatre types principaux :

- dosage enzymatique et spectrophotométrique (30),
- dosage colorimétrique (31),
- dosage après séparation chromatographique ou électrophorétique (32, 33, 34),
- dosage microbiologique (35).

III - TEST THERAPEUTIQUE -

THIRKETTLE et coll. étudiant une série de malades atteints d'anémie mégaloblastique leur administrent de faibles doses d'acide folique afin d'établir un diagnostic différentiel entre déficit en vitamine B 12 et déficit en acide folique.

Après avoir soumis les malades à une régime contenant moins de 15 γ d'acide folique et moins de 0,5 γ de vitamine B 12 par jour pendant une semaine, ils leur font ingérer ensuite pendant dix jours 200 γ/jour d'acide folique. Le test d'efficacité employé est la détermination du taux des réticulocytes sanguins.

Le test est considéré comme positif si la réticulocytose s'élève à plus de 4 %. Dans ce cas, l'auteur considère qu'il s'agit d'une carence en acide folique. La contre preuve est fournie par l'administration de vitamine B 12 aux malades n'ayant pas réagi à l'acide folique et par la comparaison des résultats cliniques obtenus. (36)

.../...

B/ - LES CARENCES EN ACIDE FOLIQUE

- GENERALITES -

I - LES APPORTS D'ACIDE FOLIQUE -

1/- Acide folique dans les aliments :

L'analyse par voie chromatographique d'échantillons de régimes américains a montré un taux de folate libre de 50 µg/j, alors que celui du folate total après traitement par la conjugase se trouve aux environs de 180 µg/j.

Les principaux composants trouvés après le traitement par la conjugase sont : (3)

- 10-CHO-H_4PtGlu : 55 %
- 5-CHO-PtGlu : 35 %
- PtGlu : 10 %

Comme on n'a pas utilisé d'agents réducteurs au cours du processus d'extraction, les composés tétrahydro, primitivement présents dans le matériel, étaient oxydés en dérivés plus stables, soient le 5-CHO-H_4PtGlu et le 10-CHO-H_4PtGlu.

L'analyse des aliments isolés a été faite et a montré que l'activité folate libre varie de 30 % du total (haricots blancs) à 4 % du total (brocoli). Le 5-CHO-H_4PtGlu et le 10-CHO-H_4PtGlu étaient les dérivés les plus abondants dans tous les aliments étudiés.

2/- Dosage de l'acide folique dans les aliments :

Il est présent dans les cellules végétales et bactériennes sous la forme primaire de conjugués contenant des molécules additionnelles d'acide glutamique.

Lorsqu'on utilise le L. Casei ou le S. Fecalis pour les essais des produits naturels, les conjugués supérieurs doivent d'abord être hydrolysés par les conjugases de l'acide folique pour le libérer.

.../...

Deux types généraux de conjugases ont été utilisés au cours des dosages.

Celle du pancréas de poulet, existant sur le marché sous forme sèche, est la plus utilisée. Elle dégrade les conjugués jusqu'à la forme diglutamate et développe son maximum d'activité à pH 7,5.

Le deuxième type, dont le pH optimal se situe à 4,5, est présent dans le rein et le foie du porc et hydrolyse les conjugués jusqu'à la forme monoglutamate.

Un troisième type possédant également cette activité a été obtenu à partir de Physalia physalis, mais le peu de disponibilité de cet enzyme empêche son emploi généralisé.

On a constaté, en ce qui concerne le foie, que la congélation puis la décongélation et l'autolyse peuvent doubler l'effet du traitement par la conjugase. Lorsque l'autolyse est utilisée, les dérivés méthyl-tétrahydro peuvent être convertis en d'autres dérivés tétrahydro éventuellement sensibles à l'oxydation atmosphérique.

3/- Séparation chromatographique des dérivés de l'acide folique :

Elle se fait soit sur papier, sur cellulose DEAE (diéthylaminoéthylcellulose) (24, 37, 38). Lorsqu'il est nécessaire d'empêcher l'oxydation des dérivés tétrahydro, l'extraction et la séparation doivent être faites en présence d'une solution 0,2 M de mercaptoéthanol.

Dans le foie de poulet, l'activité la plus grande est attribuée aux polyglutamates de 5-méthyltétrahydrofolate, alors que le 5-CH_3-H_4PtGlu, le 5-CHO-H_4PtGlu et le 10-CHO-H_4PtGlu sont présents comme composés mineurs. On a également trouvé de faibles quantités de di- et tri-glutamates.

Une répartition analogue a été trouvée dans le foie de rat ; la plus grande activité a été attribuée aux conjugués formyl et méthyl qui ne devenaient actifs pour L. Casei seulement, après traitement par la conjugase. La majeure partie du folate non conjugué était présente sous forme de 5-CH_3-H_4PtGlu.

La congélation et la décongélation du foie ou du sang hydrolysent une grande partie des conjugués primitivement présents dans les tissus frais, la répartition est alors similaire à celle observée après action de la conjugase. Les extraits chauffés de foie ou de sang sont stables lors du stockage à froid sans qu'il y ait de nouvelle hydrolyse des conjugués.

.../...

4/- Les besoins quotidiens :

V. HERBERT soumettant trois jeunes femmes à un régime carencé en acide folique, additionné respectivement de 25 γ, 50 γ et 100 γ ne constate l'apparition d'un déficit sérique notable que dans le premier cas, et situe les besoins quotidiens aux environs de 50 γ/jour (12).

CHANARIN et coll. pensent que ce chiffre est un peu faible et le fixent à 100 γ/jour (1).

Ces besoins sont donc couverts par les apports alimentaires d'un régime banal.

C/ - LES CARENCES EN ACIDE FOLIQUE

- ETUDE CLINIQUE -

I - CIRCONSTANCES D'APPARITION DE L'ANEMIE A MEGALOBLASTES DUE AU DEFICIT EN ACIDE FOLIQUE (1) -

1/- Déficit alimentaire, particulièrement au cours de :
- grossesse,
- affections gastro-intestinales.

2/- Syndrôme de malabsorption intestinale :
- stéatorrhée idiopathique,
- sprue tropicale.

3/- Cirrose alcoolique.

4/- Traitements à base de barbituriques ou d'anti-épileptique.

5/- Antifoliques et drogues apparentées :
- méthotrexate et 6-mercaptopurine,
- pyriméthamine,
- nitrofurantoïne,
- sulfamides.

6/- Maladies comportant un renouvellement accru des cellules :

- myélosclérose,
- myélomatose,
- polycythémies,
- anémies hémolytiques,
- anémies à sidéroblastes,
- leucémies,
- cancers,
- réticuloses.

7/- Défcit des prématurés et des nouveau-nés.

8/- Circonstances diverses :

- tuberculose,
- maladie de CROHN,
- arthrite rhumatoïde,
- dermatoses.

II - DEFICIT EN ACIDE FOLIQUE APRES GASTRECTOMIE -

Le déficit en acide folique associé à une anémie mégaloblastique modérée ou grave, n'est pas exceptionnelle chez les sujets ayant subi une gastrectomie partielle (40,41,42). Dans ces cas, la carence en acide folique, souvent associée à un déficit en fer et éventuellement en vitamine B 12, semble dûe principalement à un apport insuffisant (41).

L'absorption d'acide ptéroylglutamique cristallisé est anormale chez certains sujets (43). Cette malabsorption d'acide synthétique pourrait fort bien exister chez des sujets qui absorbent normalement les cristaux d'acide folique.

Il est intéressant de noter, que bien des malades gastrectomisés qui souffrent d'un déficit sévère en acide folique, souffrent aussi d'ostéomalacie et que celle-ci est imputable pour une large part à un apport alimentaire insuffisant de vitamine D, bien que la malabsorption de vitamine D alimentaire puisse être un facteur secondaire (44).

Le déficit en acide folique est habituellement associé à une sidéropénie chronique. Il se peut que la demande accrue de l'hématopoïèse consécutive à cette déplétion accentue encore le besoin en acide folique. Un déficit en acide folique est courant après une opération de Polya ou un Billroth I, et plus lorsqu'il s'agit d'ulcère gastrique que duodénal. (45)

.../...

III - DEFICIT EN ACIDE FOLIQUE ET STEATORRHEE IDIOPATHIQUE -

Cette maladie est, après la grossesse, la cause la plus courante d'anémie à mégaloblaste par déficit en acide folique. Bien que d'autres causes soient en jeu, la cause première du déficit est l'inaptitude à absorber l'acide folique alimentaire. Des travaux détaillés à propos de 100 observations à l'hôpital HAMMERSMITH montrent que tous les malades atteints de stéatorrhée ont un déficit en acide folique. L'importance d'un déficit latent a été souligné par de nombreux auteurs.

Les manifestations hématologiques sont généralement évidentes dans ces cas, même si le sujet n'est pas anémique, mais elles sont parfois masquées par le déficit en fer. Dans ce cas, elles ne se révèlent franchement qu'après une cure martiale.

Nombre de ces malades présentent également un déficit en vitamine B 12 (46, 47). Chez d'autres malades, bien que le taux sérique de vitamine B 12 soit bas, les stocks tissulaires sont normaux (48).

Ni la sévérité du déficit folique, ni celle de l'anémie à mégaloblastes ne sont en relation directe avec la sévérité de la stéatorrhée ou des symptômes intestinaux. On observe fréquemment une anémie mégaloblastique sévère chez des sujets qui ne présentent qu'une forme modérée et des symptômes intestinaux discrets, et chez lesquels la biopsie jéjunale ne montre qu'une atrophie villeuse partielle (49, 50). Dans ces cas, l'absorption d'acide folique cristallisé est souvent moins perturbée que dans les cas de stéatorrhée grave (51), aussi est-il possible que d'autres facteurs, par exemple une carence alimentaire ou l'administration prolongée de barbituriques, puissent favoriser la constitution d'une anémie mégalosblastique. Celle-ci est très rare chez les enfants atteints de maladie coeliaque non traitée, bien qu'ils soient déficients en acide folique (52). Il est possible que la demande en acide folique soit notablement réduite chez des enfants dont la croissance est gravement retardée, ou chez des adultes dont le métabolisme est très diminué. Dans les deux syndromes, la malabsorption peut être rapidement corrigée par l'institution d'un régime sans gluten (53, 54, 55).

IV - DEFICIT EN ACIDE FOLIQUE ET SPRUE TROPICALE -

On peut définir la sprue tropicale comme une malabsorption intestinale qui affecte les Européens et les Asiatiques dans certaines régions bien déterminées du globe et qui est associée à une carence folique et à des anomalies de la muqueuse du grêle.

.../...

La stéatorrhée se manifeste si les sujets absorbent des graisses alimentaires, et la malabsorption de vitamine B 12 ne manque jamais.

L'absorption des folates conjugués est beaucoup plus perturbée que celle de l'acide folique libre, mais cette différence ne semble pas due à un déficit en folate conjugase. Les concentrations en enzyme sont normales dans le sérum et dans le suc intestinal. Plusieurs hypothèses sont avancées :

- le déficit en vitamine B 12 associé réduirait l'activité des folates-conjugases,
- l'état de la muqueuse jéjunale ne permet pas à la grosse molécule de conjugué de passer, alors que la petite molécule d'acide libre peut la franchir,
- l'absorption de l'acide folique se ferait différemment de celle de ses conjugués,
- il pourrait exister un défaut de réabsorption de l'acide folique qui n'a pas été absorbé dans le duodéno-jéjunum, au niveau de l'iléon.

Cette malabsorption ne serait pas suffisante pour expliquer le déficit sévère, il est vraisemblable qu'il s'y ajoute une carence alimentaire (56).

En fait, les relations qui existent entre la sprue tropicale et le déficit en acide folique sont complexes et non encore éclaircies.

Le fait qu'une crise aiguë cède à la thérapeutique folique, laisse à penser que l'affection est la conséquence du déficit. Cependant, les modifications hitologiques et les troubles fonctionnels du grêle, qui se manifestent au cours de la sprue tropicale ne sont pas retrouvés chez des sujets qui présentent, dans d'autres parties du monde, un déficit en acide folique. Il existe des arguments qui suggèrent que ce déficit prédispose à la sprue tropicale. Une fois la sprue constituée, le déficit s'aggrave du fait de la malabsorption d'acide folique.

A la phase aiguë, l'anémie répond à des doses minimes d'acide folique ; mais plus tard, une carence en vitamine B 12 s'ajoute au déficit folique (57), et il faut associer les deux vitamines pour traiter l'affection (58). La maladie répond à une antibiothérapie à large spectre, de telle sorte que tout se passe comme si une contamination bactérienne du grêle jouait un rôle dans l'apparition ou la prolongation de la maladie (59, 60).

.../...

V - DEFICIT EN ACIDE FOLIQUE DANS LES SYNDROMES DE MALABSORPTION -

La carence en acide folique se rencontre dans les stéatorrhées secondaires à une altération pathologique ou anatomique de l'intestin grêle telle que résection ou anastomose chirurgicale, ou encore fistule spontanée. La maladie de WHIPPLE en est une autre cause.

CHANARIN et BENNETT (61) ont proposé d'étudier l'absorption du xylose et de l'acide folique pour apprécier le fonctionnement du grêle. Les malades à étudier sont préalablement soumis à un traitement parentéral pendant plusieurs jours afin de saturer l'organisme en acide folique. Après deux jours sans acide folique, on fait ingérer le xylose et l'acide folique, puis des dosages sanguins sont pratiqués. Si le test au xylose est perturbé, l'absorption de l'acide folique l'est aussi. Par contre, au cours de certaines affections comme l'iléite régionale, seule l'absorption folique semble perturbée et les auteurs en concluent que cette épreuve est l'un des tests les plus sensibles pour le diagnostic de malabsorption.

Ce sont les résections jéjunales (anse aveugle) et les fistules intestinales qui détermineraient le plus régulièrement une carence en acide folique, les résections iléales s'accompagnant surtout d'une carence en vitamine B 12.

Certaines anémies mégaloblastiques de l'enfant semblent favorisées par une diarrhée prolongée, associée à un état infectieux augmentant les besoins en acide folique. La vitamine B 12 et la vitamine C permettraient l'épargne des stocks d'acide folique ; or, celui-ci ne se trouve qu'en faibles proportions dans le lait de vache, et la simple adjonction de faibles quantités de vitamine C, à certains laits, a rendu ces faits beaucoup plus rares (62).

VI - DEFICIT EN ACIDE FOLIQUE ET CIRRHOSE DU FOIE -

Le déficit en acide folique est presque constant dans la cirrhose éthylique et l'anémie à mégaloblastes est fréquente (63, 64).

La cause de l'anémie est, là aussi, complexe. Bien des malades ont un régime carencé, et d'autre part, l'alcool a un effet toxique direct sur le métabolisme de l'acide folique, probablement par inhibition de l'enzyme dihydrofolique réductase (65,66).

Ceci explique, que lorsque ces malades sont hospitalisés, sevrés d'alcool et soumis à un régime normal, l'anémie à mégaloblastes disparaîtra, tandis que si l'alcool n'est pas abandonné, aussi bien un régime normal que de faibles doses d'acide folique seront inefficaces (66).

.../...

L'anémie mégaloblastique, par carence folique, peut apparaître chez des sujets atteints d'hémochromatose (67), nombre d'entre eux sont des alcooliques ; mais elle est très rare dans la cirrhose post-nécrotique, bien que cette dernière, c'est un fait bien connu, soit fréquemment accompagnée d'un déficit folique modéré.

Il a été suggéré, qu'un stockage défectueux d'acide folique, lié à une incapacité par le foie de le convertir en ses formes tétrahydro, pouvait aussi jouer un rôle (68).

VII - DEFICIT EN ACIDE FOLIQUE ET ANTIFOLIQUES (14) -

Les antifoliques provoquent une anémie mégaloblastique en entravant l'action de l'acide folique par inhibition des systèmes enzymatiques.

1/- Le méthotrexate (améthoptérine) est un inibiteur de l'acide dihydrofolique réductase.

2/- Les aminoptérines sont aussi des inhibiteurs de l'acide dihydrofolique réductase.

La dihydroaminoptérine est aussi active, mais la tétrahydroptérine a une activité qui ne représente que 2 % de celle des autres aminoptérines. Ce sont des inhibiteurs irréversibles en raison de la force de la liaison enzyme-antifolique.

Ces corps sont sans action sur la réductase de l'acide folique, sur la tétrahydrofolate formylase. La thymidilate synthétase est inhibée par la tétrahydroaminoptérine.

Ils inhibent la synthèse de la thymine in vivo en empêchant la réduction de H_2PtGlu, formée lors de la synthèse des thymidilates, en H_4PtGlu.

3/- Le P-chloro mercuribenzoate est un inhibiteur de l'enzyme tétrahydrofolate formylase. Il empêche l'activation du groupe formate entravant ainsi la synthèse des purines.

4/- Les antimalariques de synthèse peuvent se conduire comme des antifoliques, en particulier la pyriméthamine (Malocid) qui a une structure très voisine de celle de la thymine.

.../...

5/- Les sulfamides inhibent la synthèse de l'acide folique en freinant la condensation de la dihydroptéridine avec l'acide para-aminobenzoïque. Par ailleurs, ils peuvent se combiner avec la ptéridine pour former un analogue soufré de l'acide dihydroptéroïque.

La nitrofurantoïne, utilisée en chimiothérapie urinaire, chimiquement très proche de la diphénylhydantoïne, peut, elle aussi, donner des anémies mégaloblastiques par carence en acide folique.

VIII - ADMINISTRATION D'ANTICONVULSIVANTS ET DEFICIT EN ACIDE FOLIQUE -

L'anémie à mégaloblaste a été décrite chez de nombreux sujets qui absorbent des anti-épileptiques ou de fortes doses de barbituriques (69).

Il est peu probable, que ces thérapeutiques provoquent à elles seules, des troubles hématologiques aussi importants.

De nombreux sujets, soumis à des traitements de ce genre, ont des signes hématologiques et biochimiques discrets de carence en acide folique, mais l'anémie mégaloblastique est rare et n'apparaît probablement, que s'il existe une réduction de l'apport alimentaire en acide folique ou une augmentation des besoins en vitamine (62).

Bien que les hydantoïnes soient le plus souvent en cause, des cas indiscutables avec la primaclone (mysoline) ont été rapportés, et d'autres lors d'un traitement par le seul phénobarbital.

Le mécanisme de l'action de ces drogues sur le métabolisme de l'acide folique est sujet à discussion :

- ils peuvent agir comme des inhibiteurs ou des antagonistes faibles de l'acide folique,

- ALBAHARY et coll. : les anticonvulsivants agiraient en inhibant la Bc conjugase, enzyme qui libère l'acide folique apporté par l'alimentation sous forme conjuguée. Certains sujets présenteraient un déficit constitutionnel en Bc conjugase et ainsi l'anémie mégaloblastique des anticonvulsivants entrerait dans le cadre des enzymopathies congénitales. Ceci expliquerait que de très faibles doses d'acide folique libre suffisent à corriger ces troubles malgré la poursuite du traitement anticonvulsivant.

- GIRWOOD et LENMAN établissent un rapprochement entre le noyau pyrimidine de la primaclone ou du phénobarbital et le noyau ptéridine de l'acide folique. Cependant, la phénytoïne n'a qu'une relation structurale plus éloignée. D'autre part, de nombreuses expériences microbiologiques n'ont jamais réussi à mettre en évidence l'action antifolique attribuée aux antiépileptiques.

.../...

L'absorption de xylose et celle de l'acide folique peuvent être diminuées chez des sujets atteints d'anémie mégaloblastique liée à un traitement antiépileptique ; elles reviennent à la normale à la suite d'administration d'acide folique. Le phénobarbital entrave l'absorption du glucose in vitro. Cependant, il semble assez douteux que des défauts d'absorption du xylose et de l'acide folique soient en relation directe avec l'action des médicaments sur la muqueuse intestinale.

Au total (72), il semble que les divers troubles occasionnés par les anticonvulsivants en général, et les hydantoïnes en particulier, relèvent d'un défaut enzymatique (71). Les hydantoïnes ne joueraient donc que le rôle d'analyseurs de l'équipement enzymatique, comme beaucoup d'autres agents pharmacodynamiques.

IX - DEFICIT EN ACIDE FOLIQUE DES NOUVEAUX-NES ET DES PREMATURES -

Le déficit en acide folique, parfois assez sévère pour entraîner une anémie à mégaloblastes, a été décrit chez des prématurés. Les réserves d'acide folique sont minimes chez le foetus jusqu'au septième mois, et il semble, que les bébés nés avant ce terme soient tôt carencés après la naissance. Les effets de la carence peuvent être accentués par le fait qu'il existe chez ces bébés un taux tissulaire bas de vitamine B 12.

L'anémie à mégaloblastes, souvent associée à une malnutrition protidique, se voit aussi chez les nouveaux-nés et les enfants.

La sévérité de l'anémie du nouveau-né varie selon les différentes parties du monde, elle est vraisemblablement fonction de la diversité des régimes alimentaires (39).

X - LES DEFICITS EN ACIDE FOLIQUE AU COURS DE LA GROSSESSE -

Le déficit en acide folique est fréquent au cours de la grossesse.

Il provoque rapidement une atteinte de l'état général chez la mère, entrave le développement du foetus, en particulier du trophoblaste, et peut être associé avec des complications maternelles ou foetales de la grossesse. (70).

.../...

STONE , LUHBY, FELDMAN et coll. (73) étudiant les carences en acide folique chez les consultantes de maternité, constatent qu'il est plus souvent cause d'anémie mégaloblastique chez la femme enceinte que le déficit en vitamine B 12.

Leur étude porte, à la fois, sur des grossesses normales ou anormales et sur des grossesses compliquées.

Ils constatent que l'excrétion urinaire du Figlu est augmentée dans 22 % des cas, le déficit folique est à peu près 4 fois plus fréquent que ne le laisse supposer le nombre des anémies mégaloblastiques.

Il existe deux périodes de la gestation pendant lesquelles le déficit est plus fréquent :
- au cours du premier trimestre,
- et à l'approche du terme.

70 % des multipares avaient un déficit folique, l'âge de la femme et le nombre des grossesses, ainsi que l'intervalle entre les grossesses, semblent être en cause.

Dans le cas des maladies placentaires, le pourcentage de carence est voisin de 60 %, et il est probable que le métabolisme de l'acide folique est perturbé au cours du choc et des hémorragies.

Le nombre élevé de déficits foliques au cours des toxémies gravidiques, implique une étiologie commune à ces deux phénomènes, mais n'implique pas obligatoirement une relation de cause à effet. Il pourrait y avoir une atteinte des systèmes enzymatiques hépatiques entraînant, à la fois, des modifications du métabolisme des stéroïdes et du métabolisme de l'acide folique.

L'administration d'antifoliques au cours de la grossesse entraîne un nombre important de malformations foetales.

Des taux sériques bas d'acide folique correspondent souvent avec l'existence de malformations. D'autre part, une carence folique pourrait entraîner un ralentissement du développement intra-utérin, la prématurité, une croissance lente des nouveaux-nés, des retards mentaux chez l'enfant. Les enfants nés de mères carencées en acide folique sont eux aussi carencés.

Les auteurs accordent une part de responsabilité importante à la malnutrition dans la génèse de ces déficits, en raison de l'importante augmentation des besoins.

La malabsorption intestinale pourrait, elle aussi, être en cause, mais ces deux facteurs semblent insuffisants pour expliquer la grande fréquence et la gravité des carences en acide folique au cours de la grossesse.

.../...

Les modifications hormonales joueraient un rôle important dans le métabolisme de cette vitamine et entraîneraient des modifications de l'utilisation de l'acide folique.

HIBBARD (31) faisant une étude semblable, aboutit à des conclusions voisines.

Chez les femmes ayant déjà eu 5 grossesses ou plus le déficit est trois fois plus fréquent que chez les primipares.

Dans les cas de grossesses gémellaires, 51 % des femmes sont carencées.

Sur 36 cas de toxémies gravidiques, l'auteur trouve 22 fois une excrétion urinaire accrue du Figlu.

CHANARIN et coll. (1) dans une étude portant sur 206 femmes, ne découvrent pas un seul cas d'anémie et seulement 3 cas d'hypersegmentation neutrophile, signe de processus mégaloblastique.

Ils ont essayé de déterminer les besoins quotidiens en acide folique et pensent qu'ils se situent aux alentours de 260 γ par jour pour la femme enceinte alors que les besoins normaux sont de 50 à 100 γ/j. L'apport alimentaire se situant, d'après eux, aux environs de 160 γ d'acide folique libre et de 676 γ de folates totaux.

XI - DEFICIT EN ACIDE FOLIQUE ET NEUROPATHIES -

Depuis la description première de LITCHTEIM en 1887, mentionnant l'association de troubles neurologiques et d'anémie pernicieuse, différentes manifestations neurologiques atteignant les nerfs périphériques et la moelle ont été rangées dans ce syndrome. Il faut également lui ajouter certaines atteintes cérébrales et les névrites optiques.

GRANT, HOFFBRAND, WELLS en 1965 (74) ayant observé un sujet atteint de neuropathie périphérique inexpliquée, mais avec mégaloblastose médullaire et déficience totale en acide folique, firent une étude des neuropathies périphériques inexpliquées en fonction d'une déficience éventuelle en vitamine B 12 et en acide folique. Ils constatèrent que 7 sur 10 des sujets étudiés qui présentaient une hématopoïèse avec mégaloblastose, présentaient une déficience en acide folique, et seulement trois, une carence en vitamine B 12.

.../...

Plus récemment CASTAIGNE et coll. en 1969 (75) étudiant les affections neurologiques nutritionnelles, ont pratiqué systématiquement des tests de charge en histidine.

Sur 74 malades ainsi étudiés, 36 présentaient un important accroissement de l'excrétion urinaire du Figlu. Chez six de ces malades une thérapeutique par l'acide folique se montra efficace, permettant d'affirmer l'étiologie de cette neuropathie.

Dans trois autres cas, bien que la probabilité pour qu'il s'agisse effectivement d'une carence en acide folique soit grande, aucune preuve absolue n'a pu être apportée pour des raisons diverses (sortie de malade avant guérison, absence d'examens de contrôle ultérieurs...).

Les auteurs, après étude des 18 observations mondiales publiées et dont l'étiologie est certaine, concluent qu'il n'existe pas de spécificité clinique propre à une carence en acide folique. Les cas décrits comportent en effet :

- des neuropathies périphériques,
- des détériorations intellectuelles,
- des syndromes cérébelleux,
- des confusions mentales,
- des syndromes vestibulaires,
- une névrite optique.

XII - LA FOLEMIE DANS L'ANEMIE DE BIERMER -

CLARK (76) étudie l'absorption de l'acide folique donné par voie buccale chez 10 malades atteints d'anémie de Biermer. Après ingestion, il dose l'acide folique sérique.

La valeur des pics de folémie ne diffère pas sensiblement chez les biermeriens par rapport aux sujets normaux, mais ils semblent apparaître plus tôt. L'acide folique est plus rapidement absorbé. Il n'existe pas de troubles de l'absorption intestinale. Les taux sériques maximum sont plus rapidement atteints et plus longtemps maintenus que chez les sujets normaux. Il existerait un déficit relatif et une désaturation des tissus.

Pour VARALDI et ELWIS (77), il n'existe pas de malabsorption évidente d'acide folique au cours de l'anémie de BIERMER. Les tests d'absorption sont normaux. Par contre, dans la majorité des cas, ils retrouvent un régime carencé. Après traitement par acide folique et constitution d'un régime équilibré, ils n'observent pas de rechute.

.../...

LES CARENCES EN ACIDE FOLIQUE

CHEZ LES PERSONNES AGEES

Chez les personnes âgées, il est bien évident que l'on peut rencontrer des carences en acide folique ayant la même étiologie que chez les sujets jeunes. Leur fréquence, dans ces cas, est proportionnelle à celle de l'affection causale chez les gens âgés. Cependant, on peut se demander si le vieillissement, par lui-même, n'est pas un facteur d'apparition des carences en acide folique. L'anémie mégaloblastique n'est pas exceptionnelle, et il est apparu intéressant de savoir s'il n'existait pas de nombreux déficits foliques infracliniques (78).

De nombreux travaux ont été faits par les auteurs britanniques afin de déterminer la fréquence des carences foliques chez les personnes âgées. (79 à 85).

.../...

A/ - EXEMPLES DE RECHERCHES FAITES SUR LA FREQUENCE DES CARENCES EN ACIDE FOLIQUE CHEZ LE VIEILLARD

I - TRAVAUX DE HURDLE ET WILLIAMS - (86)

Ils étudient 72 malades, de plus de 70 ans, admis dans un service de médecine générale.

Furent exclus :

- les malades graves ou atteints d'infection chronique, d'anémie hémolytique, de cirrhose éthylique,
- et ceux soumis à des traitements anticonvulsivants.

La folémie est abaissée dans 28 cas parmi lesquels se trouvent :

- 14 anémies, dont une à mégaloblaste,
- 1 cancéreux,
- 2 malades ayant une urée sanguine élevée,
- 2 malades avec moelle mégaloblastique.

Le taux sérique de vitamine B 12 est normal.

11 malades sur les 28 à folémie abaissée ont plus de 4 % de polyneutrophiles comportant plus de 4 lobes, ce qui traduit l'existence d'un processus mégaloblastique, alors qu'il n'y en a que 7 sur les 44 malades à folémie normale.

27 examens de moelle furent pratiqués, 2 seulement montraient une transformation mégaloblastique parmi les malades à folémie basse.

Le dosage des lipides fécaux ne montre aucune différence entre les deux groupes.

L'absorption digestive de l'acide folique est identique chez tous les sujets.

L'étude faite sur les régimes alimentaires avant l'admission semble montrer qu'il n'existe pas de rapport entre les apports alimentaires en acide folique et la folémie.

.../...

Enfin, le test au figlu fut pratiqué 52 fois :

- 16 fois chez des sujets à folémie basse avec 8 résultats positifs, et
- 31 fois chez des sujets à folémie normale avec seulement 4 tests perturbés.

Les malades sont divisés en trois catégories sociales :

- 1° groupe : malades ayant une mobilité et un état mental satisfaisant,
- 2° groupe : malades ayant une mobilité diminuée mais un état mental satisfaisant,
- 3° groupe : malades ayant une mobilité normale mais un psychisme déficient.

Dans le premier groupe, seulement 8 malades sur 36 ont une folémie basse, dans le deuxième groupe 5 sur 13, et dans le troisième groupe, la proportion est beaucoup plus importante avec 12 folémies basses sur 18 malades (67 %).

Les auteurs pensent que la grande fréquence des taux sériques d'acide folique bas (1/3 des malades) n'est pas due à une baisse physiologique de la folémie au cours de la sénescence, ce qui est confirmé par l'existence de 50 % d'épreuves au figlu positives.

Le dosage des lipides fécaux et les tests d'absorption de l'acide folique ont servi à éliminer les troubles trop importants de l'absorption intestinale.

La grande fréquence des déficits dans le troisième groupe suggère une origine nutritionnelle à ces carences.

II - TRAVAUX DE BATATA ET COLL. - (87)

Leur étude porte sur 100 malades admis à l'hôpital pour des motifs divers (27 hommes et 73 femmes).

Sont exclus les malades ayant reçu des antibiotiques, des transfusions de sang, de la vitamine B 12 ou de la vitamine C.

Parmi ces malades on trouve 37 anémies :

- 10 anémies hypochromes avec sidéroblastes médullaires abaissés,
- 6 anémies hypochromes moins importantes avec sidéropénie médullaire,
- 19 anémies normochromes et 2 anémies hypochromes) avec un taux de sidéroblastes médullaire normal.

.../...

Parmi les 63 malades non anéniques, 39 ont une sidéropénie médullaire.

Chez toutes les personnes étudiées, l'hématopoïèse est normale (sauf dans un cas de réticulosarcome).

Chez 20 malades, la folémie est abaissée, de façon très importante par rapport aux 93 folémies de contrôle pratiquées chez des sujets jeunes.

18 malades ont un taux sérique bas de vitamine B 12, mais beaucoup moins abaissée que ce que l'on voit dans les anémies de BIERMER. Le taux de vitamine B 12 n'a pas tendance à s'abaisser avec l'âge.

Il ne semble pas exister de relations étroites entre le taux de vitamine B 12, le taux de vitamine C, la folémie, et la quantité d'hémoglobine.

1/3 des malades sont anémiques et 10 % ont un déficit en fer, avec une fréquence importante d'anémies normochromes. Malgré les folémies basses et les taux de vitamine B 12 abaissés, aucun cas d'anémie mégaloblastique ne fut découvert. L'enquête diététique montre que les malades admis ont souvent une nourriture pauvre ou une anorexie importante. Il semble que l'association d'une déficience physique et la perte de l'intérêt pour la nourriture soient les facteurs importants dans la production de ces carences.

Les auteurs pensent que l'anorexie et des phénomènes de malabsorption sont responsables des carences foliques. Il ne leur semble pas que les déficits foliques soient plus fréquents chez les personnes âgées que chez les sujets jeunes.

III - TRAVAUX DE GIRDWOOD ET COLL. - (88)

Ils divisent les sujets étudiés en trois groupes :

- 1° groupe : 62 sujets de plus de 65 ans dont 40 femmes, 25 vivant seules. Ce sont des sujets en bonne santé et non hospitalisés.

- 2° groupe : il est composé de 39 malades hospitalisés de plus de 65 ans ayant bon appétit et ne présentant ni maladie intestinale ni cancer, et n'ayant pas reçu de traitements antibiotiques.

- 3° groupe : il est constitué de 62 jeunes gens bien portant. Il sert de référence.

.../...

Les résultats sont les suivants :

- Dans le 1° groupe : - 5 malades avec folémie basse,
  - 4 avec un taux sérique bas en vitamine B 12, il s'agissait d'anémie de BIERMER ; mais la folémie était normale,
  - 11 femmes présentaient anémie et sidéropénie,
  - 1 homme présentait anémie et sidéropénie.

- Dans le 2° groupe : - 7 des 39 malades ont une folémie basse,
  - 3 ont une déficience en vitamine B 12 avec une folémie normale, mais il ne s'agit pas d'anémies de BIERMER.

- Dans le 3° groupe : - 5 sur les 62 sujets témoins ont une folémie basse.

En conclusion :

Il n'existe pas de différence statistiquement valable entre les groupes 1 et 3.

Parmi les malades hospitalisés, les taux bas se rencontrent surtout chez ceux qui sont hospitalisés depuis longtemps. Il n'existe pas d'explication très satisfaisante à ce phénomène : la nourriture de l'hôpital est convenablement équilibrée, mais il est possible que les malades mangent moins que chez eux.

Il semble que les différences de résultats trouvés selon les régions dépendent d'habitudes alimentaires régionales différentes.

IV - CONCLUSIONS -

La fréquence des carences en acide folique est très diversement appréciée selon les auteurs. Pour les uns, elle est très fréquente et nécessite l'administration systématique d'acide folique chez les personnes âgées. pour les autres, il n'existe pas de différence significative entre les folémies trouvées chez les vieillards et celles trouvées parmi les sujets jeunes pris comme groupes de référence.

Cependant, il est possible de dégager des conclusions communes de ces travaux. Le fait que les carences soient plus fréquentes chez les personnes vivant seules, chez les malades alités, hospitalisés de longue date , chez les vieillards à psychisme défaillant, chez les anorexiques, en fait chaque fois que l'on trouve une cause entraînant un mauvais équilibre alimnetaire, suggère que ces carences en acide folique sont d'origine nutritionnelle.

.../...

B/ - LES DEFICITS NUTRITIONNELS PURS EN ACIDE FOLIQUE

I - DEFICIT EXPERIMENTAL -

Chez l'homme, il ne fut pas réalisé avant 1962. Les premières expériences de ce type réalisées par V. HERBERT (89) comportaient l'administration de régimes dépourvus en acide folique obtenus par cuisson prolongée des aliments dans de grandes quantités d'eau (90). L'anémie mégaloblastique, signant un déficit sévère en acide folique n'apparaît qu'après 4 mois 1/2 de ce régime. Le minimum de temps nécessaire à l'obtention d'une carence est de 120 jours.

II - DIAGNOSTIC DE CARENCE D'ORIGINE NUTRITIONNELLE - (92)

1/- Le premier temps du diagnostic est certainement le diagnostic hématologique.

Le taux sérique d'acide folique est le premier signe à apparaître et le plus sensible des signes de déficit. La diminution de la teneur en acide folique des hématies et les tests de charge en histidine anormaux, particulièrement utiles dans le diagnostic des carences avec folémie normale, signent un déficit sévère.

2/- Une fois le diagnostic de carence folique porté, il faut éliminer l'existence d'une carence en vitamine B 12. Habituellement, le taux sérique de vitamine B 12 est normal, mais il peut être abaissé dans les carences foliques sévères. Dans ces cas, l'épreuve thérapeutique par administration d'acide folique est sans valeur car certains malades répondent et d'autres ne présentent aucun signe de guérison évident.

Il faut alors évaluer les réserves de l'organisme en vitamine B 12. Elles peuvent être abaissées mais le sont moins que dans les anémies de BIERMER.

.../...

3/- L'étape suivante du diagnostic consiste à éliminer l'existence d'une malabsorption intestinale. Le dosage des lipides fécaux et surtout les tests d'absorption de l'acide folique permettent d'en faire le diagnostic.

4/- Il ne reste plus qu'à faire une étude diététique prouvant que le régime habituel est carencé en acide folique. Les difficultés rencontrées sont énormes. Il est parfois impossible de reconstituer les habitudes alimentaires de sujets à psychisme plus ou moins bon. D'autre part, les tables de teneur des aliments en acide folique donnent des valeurs très différentes. De plus, les besoins quotidiens en acide folique ne sont pas déterminés de façon absolument exacte.

5/- Au total, le diagnostic de carence folique nutritionnelle est plus un diagnostic d'exclusion, qu'un diagnostic positif. On ne le porte qu'après avoir élininé les autres causes de carence en acide folique.

C/ - LA NUTRITION DES PERSONNES AGEES (83)

I - Les besoins alimentaires des personnes âgées sont, en fait, assez mal connus.

Cependant, il semble qu'il existe de nombreuses malnutritions infracliniques chez les personnes âgées. Il est par ailleurs fort difficile d'établir un lien de cause à effet entre ces malnutritions légères et les troubles pathologiques du vieillard.

II - Selon PAULETT et BUXLIN, il y aurait 50 % de nourritures mal équilibrées parmi la population âgée, et ce, uniquement pour des causes financières.

Par ailleurs, les personnes âgées sont particulièrement exposées aux différentes causes de malnutrition.

Il peut s'agir de séquelles de gastrectomie, encore qu'il existe de nombreux gastrectomisés bien portants. Chez ces sujets, il suffit généralement de les convaincre de reprendre une alimentation normale pour voir disparaître tous les troubles dûs à la malnutrition.

.../...

Le nombre de gastrites atrophiques est important parmi les personnes âgées.

Par ailleurs, il est évident que c'est parmi eux que l'on trouve le plus fréquemment :

- dépression et apathie,
- gâtisme,
- habitudes alimentaires bizarres,
- personnes immobilisées et alitées depuis longtemps dépendant des autres pour leur nourriture.

Enfin, chez les personnes âgées, le sens du goût s'altère, ce qui peut expliquer certaines bizarreries de leur régime alimentaire.

C'est dans ces tranches d'âge que se rencontrent le plus grand nombre de personnes vivant seules.

III - L'extrême fréquence de ces malnutritions chez les personnes âgées est mis en évidence par POWELL.

Il découvre qu'il existe 39 % d'anémies avec sidéropénie parmi les hommes et 41 % parmi les femmes, dans un groupe de malades âgés admis à l'hôpital pour des épisodes aigus.

D'autres recherches ont été faites qui ont montré près de 50 % des malades âgés d'un hôpital ont des réserves totales de fer abaissées.

D/ - VALEUR DE LA FOLEMIE COMME SIGNE DE CARENCE EN ACIDE FOLIQUE

La baisse de la folémie semble être le premier signe de la constitution d'un déficit en acide folique, et est peut-être le plus sensible.

Il existe cependant des déficits sévères en acide folique qui s'accompagnent de folémies normales, et, à l'inverse des folémies basses chez des sujets ne présentant aucun autre critère de déficit et plus spécialement avec des réserves d'acide folique normales ; mais ces cas sont rares.

.../...

Pour affirmer la carence folique, il paraît donc nécessaire de déterminer aussi l'importance des réserves, en particulier dans les hématies. Il serait souhaitable que, simultanément, on fasse une étude de l'absorption de l'acide folique ou une détermination de la clearance de cette vitamine. Le test de charge en histidine apporte lui aussi des renseignements capitaux, indiquant de quelle manière est utilisé l'acide folique présent dans l'organisme.

Quoiqu'il en soit, la découverte d'une folémie abaissée est dans la majorité des cas un signe de déficit et doit entraîner la mise en route des autres tests de carence, ce, sur le plan clinique.

Lorsqu'il s'agit d'une étude portant sur un nombre important de sujets, cet examen relativement simple donne des résultats statistiquement valables, surtout si l'on prend soin d'effectuer cette même épreuve parmi un groupe de personnes supposées en bonne santé, les valeurs trouvées étant prises comme base de comparaison.

.../...

CONTRIBUTION PERSONNELLE

A L'ETUDE DES TAUX SERIQUES D'ACIDE FOLIQUE

CHEZ LES PERSONNES AGEES

Une étude systématique a été entreprise sur les pensionnaires de la fondation de ROTHSCHILD au cours de laquelle la détermination de la folémie a été faite. Dans ce travail, nous ne rapporterons que les résultats concernant les personnes hématologiquement normales.

Parallèlement, un dosage de l'acide folique sérique a été fait chez des sujets jeunes et bien portants afin d'obtenir des valeurs de comparaison.

.../...

I - PRINCIPES DE L'ETUDE -

1/- Aucun sujet n'a été écarté de prime abord du travail. Parallèlement à la détermination du taux sérique d'acide folique, un bilan hématologique a été fait qui comprenait :

- numération et formule sanguine,
- vitesse de sédimentation,
- hématocrite,
- hémoglobinémie,
- réticulocytose,
- pourcentage de polynucléaires à noyaux de plus de 5 lobes,
- protides,
- calcul du volume globulaire,
- calcul de la quantité d'hémoglobine par hématie.

Ce n'est que sur le vu des résultats qu'ont été choisies les 174 personnes hématologiquement normales.

2/- Par ailleurs, une détermination du taux sérique d'acide folique avait été faite chez trente sujets jeunes et bien portants, recrutés parmi le personnel médical et infirmier ; cette recherche étant faite à titre comparatif. Il n'a pas été pratiqué, dans ce cas, de bilan hématologique.

3/- Dosage de l'acide folique :

Il a été fait selon une méthode microbiologique. L'organisme utilisé est le lactobacillus ATTC 74-69.

Le sérum à étudier, non hémolysé, est ajouté à un tampon diphosphaté contenant de l'acide ascorbique afin d'assurer la conservation de la solution obtenue. Elle est ensuite stérilisée par un premier passage à l'autoclave, puis centrifugée. Le surnageant est recueilli, et on lui ajoute un milieu d'essai contenant tous les éléments nécessaires à la croissance du lactobacillus, sauf l'acide folique.

Chaque dosage est fait sur trois tubes, un quatrième servira de témoin pour la détermination de la densité optique.

De la même manière, on prépare une gamme témoin, dont les tubes contiennent des quantités connues et progressivement croissantes d'acide folique.

.../...

Gamme témoin et sérum à étudier sont à nouveau passés à l'autoclave afin de parfaire la stérilisation.

On ensemence ensuite chaque tube de quantités égales de germes, exception faite des tubes témoin.

Les suspensions obtenues sont mises à incuber à l'étuve pendant 18 heures à 37°. puis sorties et réfrigérées afin de stopper la croissance du microorganisme.

On mesure la densité optique des tubes de la gamme témoin et on trace la courbe en fonction des quantités d'acide folique contenues dans les tubes.

La quantité d'acide folique contenue dans le sérum à tester est déduite par comparaison.

Seule une partie de la courbe est utilisable. Un second dosage est fait si les chiffres obtenus sont inférieurs à 5 γ/l ou supérieurs à 20 γ/l en doublant ou en diminuant de moitié la quantité de sérum.

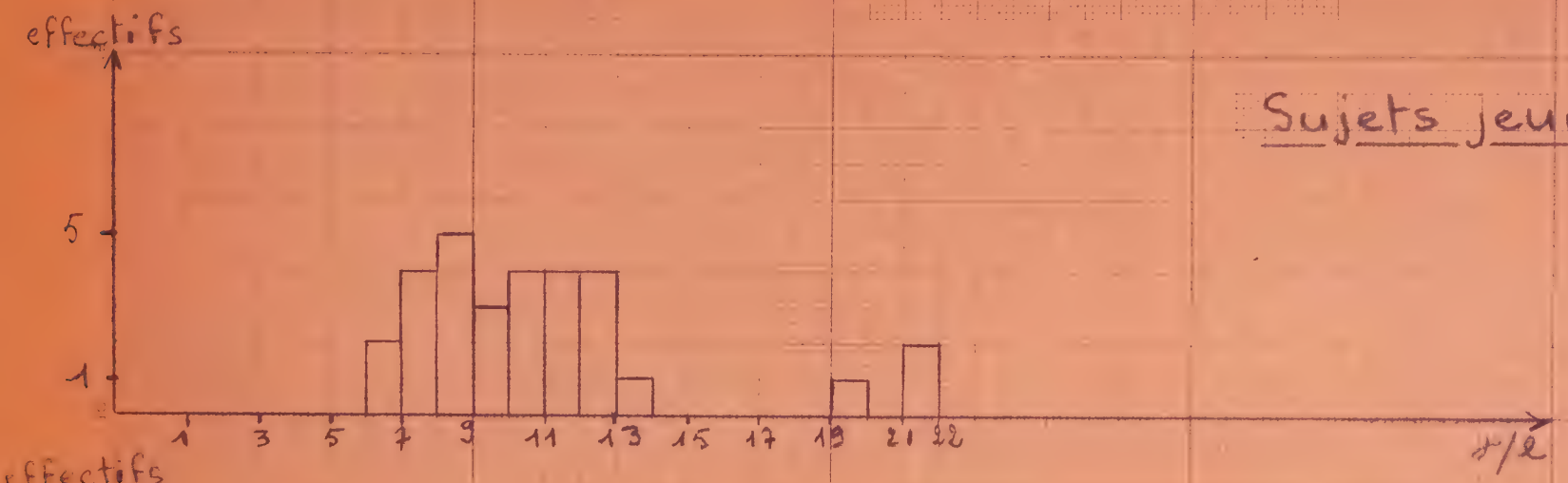
4/- Valeurs normales de la folémie :

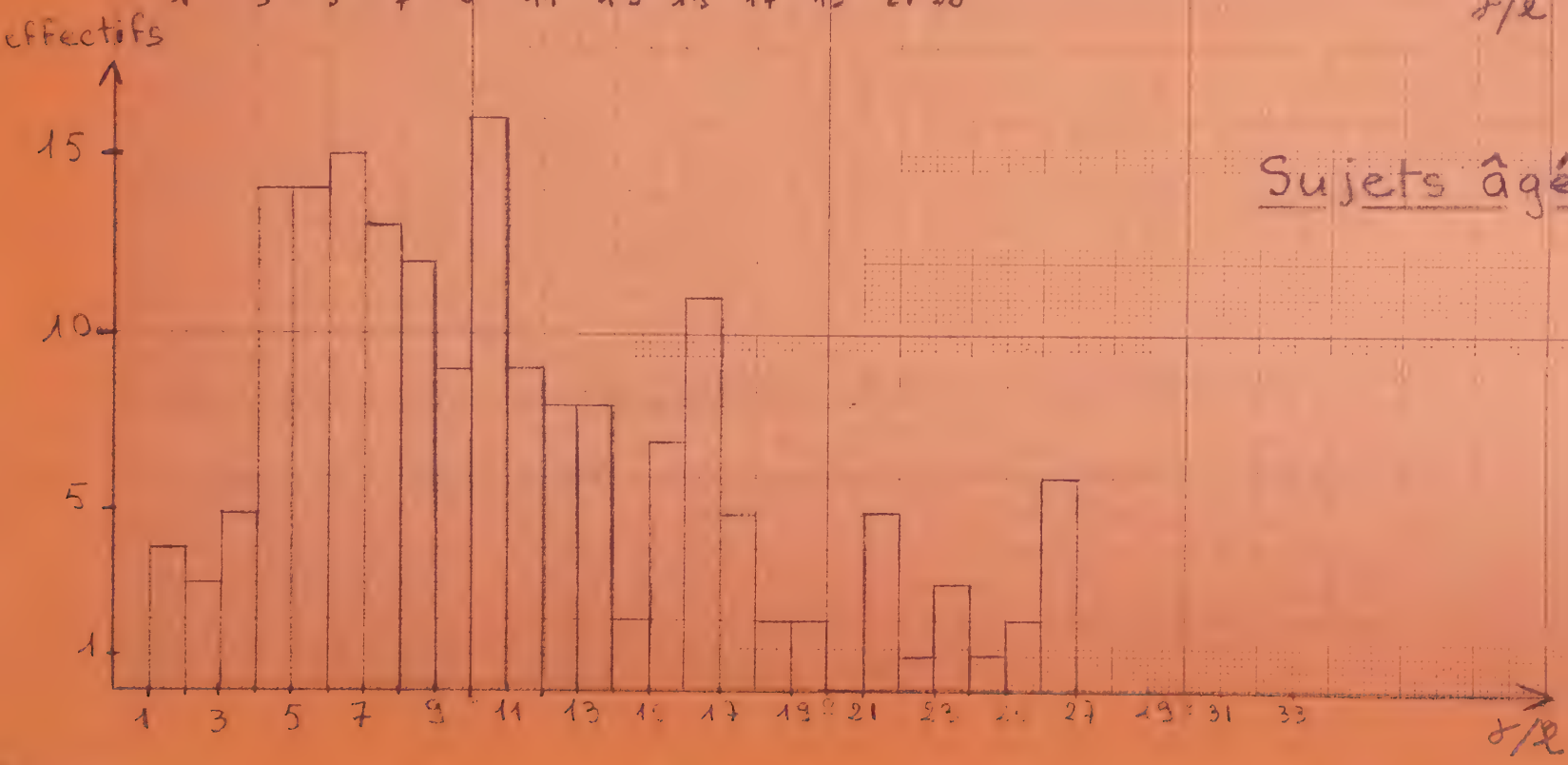
Age	Chiffres extrêmes	Moyenne	Nb d'essais
(1) Adultes	5,9 - 21,3 γ/l	9,9 γ/l	
(2) Nouveau-nés	14 - 21 γ/l	17,9 γ/l	28
6 mois - 18 mois	6 - 14 γ/l	8,7 γ/l	44
18 mois - 3 ans	6 - 20 γ/l	8,8 γ/l	46
3 ans - 15 ans	6 - 12 γ/l	8,5 γ/l	37
Adultes	6 - 22 γ/l	14,2 γ/l	45

(1) Selon MOLLIN

(2) Selon NAVARRO (93)

.../...


effectifs
Sujets jeunes
5
1
1 3 5 7 9 11 13 15 17 19 21 22
d/2


effectifs
Sujets âgés
15
10
5
1
1 3 5 7 9 11 13 17 21 27 31 33
d/2

Les résultats obtenus au cours de ce travail sont du même ordre :

- sujets jeunes : 6,3 - 21,8 γ/l - moyenne : 10,7 - 30 essais.
- sujets âgés : 1,4 - 33,5 γ/l - moyenne : 10,7 - 174 essais.

II - RESULTATS -

1/- Groupe témoin :

Les valeurs trouvées vont de 6,3 γ/l à 21,8 γ/l.

La dispersion paraît grande, mais 27 des trente sujets étudiés ont une folémie comprise entre 6,3 γ/l et 13,7 γ/l ; les trois autres ont des taux sériques d'acide folique élevés : 19,9 à 21,8 γ/l.

La moyenne est de 10,7 γ/l et l'écart type de 2,66.

Il existe un hiatus important entre les 2 groupes de valeurs trouvées. L'étude n'ayant pas été complète, il est impossible d'avancer une hypothèse pour expliquer ce phénomène.

2/- Sujets âgés :

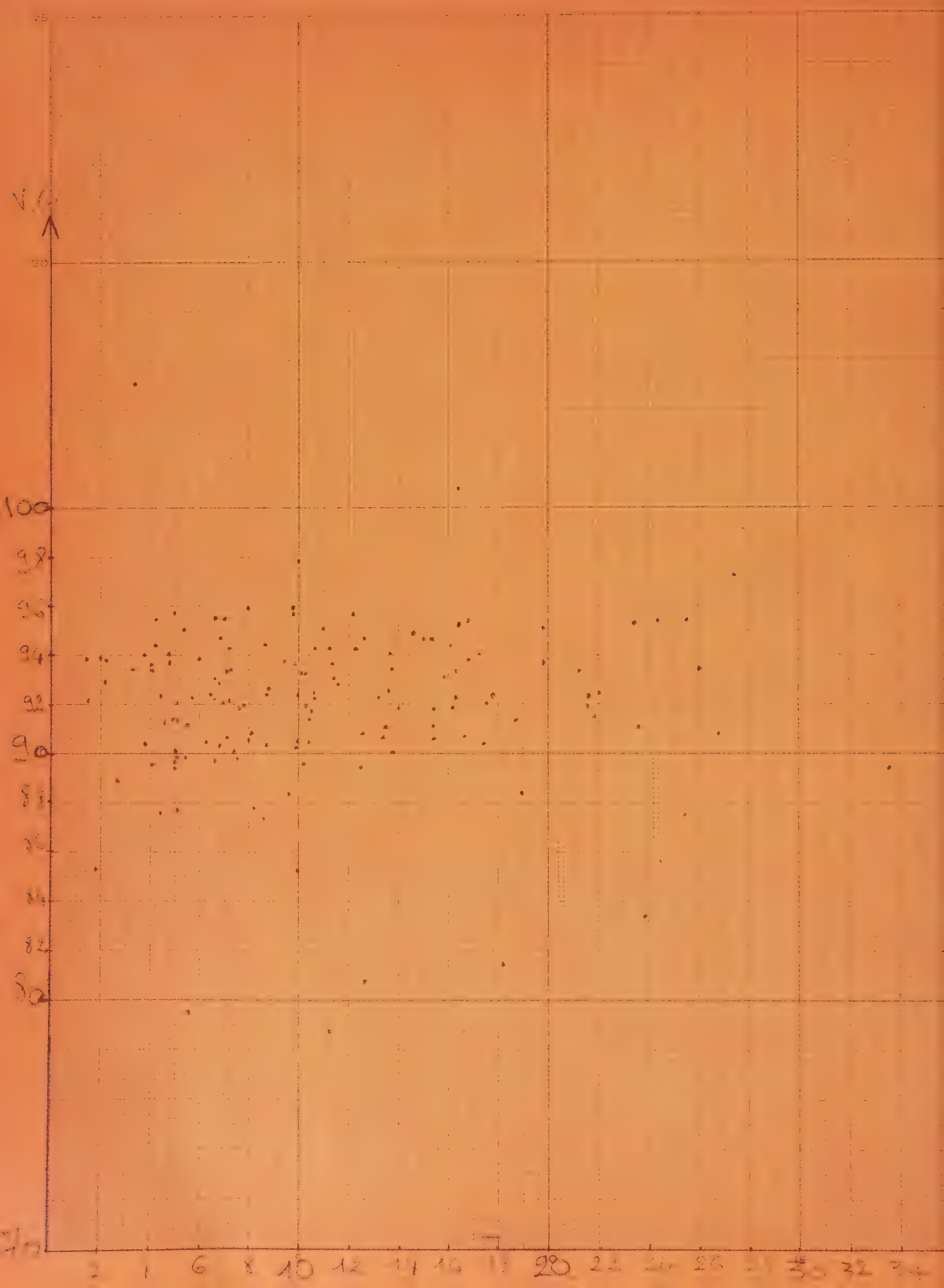
a)- 174 déterminations ont été faites sur des sujets hématologiquement normaux. Il s'agit de personnes âgées de 58 à 98 ans (moyenne : 79 ans 8 mois), valides, vivant en communauté et ayant une nourriture identique, suffisamment abondante et variée.

b)- Les valeurs trouvées s'étalent de 1,4 γ/l à 33,5 γ/l sans hiatus, contrairement à ce qui a été vu dans le groupe témoin. La moyenne est de 10,5 γ/l et l'écart type de 4,97, ce qui témoigne bien d'une plus grande dispersion des valeurs (voir courbes de répartition).

c)- 27 personnes ont une folémie inférieure ou égale à 5 γ/l, soit 15,5 %, et sont considérés comme ayant un déficit folique sérique.

d)- 15 sujets ont une folémie égale ou supérieure à 20 γ/l, soit 8,8 % , ce qui représente un proportion non négligeable de personnes ayant des taux sériques d'acide folique élevés.

.../...


100
98
96
94
92
90
88
86
84
82
80
6
8
10
12
20
22
26
32

90
80
70
60
10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30

III - DISCUSSION -

1/- Folémie et âge :

Nous avons dressé la courbe représentant l'évolution de la folémie en fonction de l'âge. La répartition se fait tout à fait au hasard et aucune relation ne peut être établie entre ces 2 valeurs, tout au moins, dans la tranche d'âge considérée.

2/- Folémie et nombre d'hématies :

On pouvait s'attendre à trouver une relation étroite entre nombre de globules rouges et taux sérique d'acide folique. Or, il n'en est manifestement rien.

Ce phénomène semble accréditer la thèse selon laquelle le taux sérique d'acide folique ne serait pas un signe valable de carence.

En fait, plusieurs explications sont possibles :

- L'acide folique sérique ne reflète pas l'état des stocks de l'organisme, et, à un taux bas, peuvent correspondre des réserves normales.
- L'abaissement de la folémie serait le premier signe annonçant la création de la carence avant toute manifestation clinique.
- Un taux bas d'acide folique peut correspondre à une carence réelle, mais insuffisamment importante pour ne pas donner de signes cliniques.

Quoi qu'il en soit, on ne peut porter le diagnostic de carence folique sur le seul vu d'une folémie abaissée.

3/- Folémie et hématocrite :

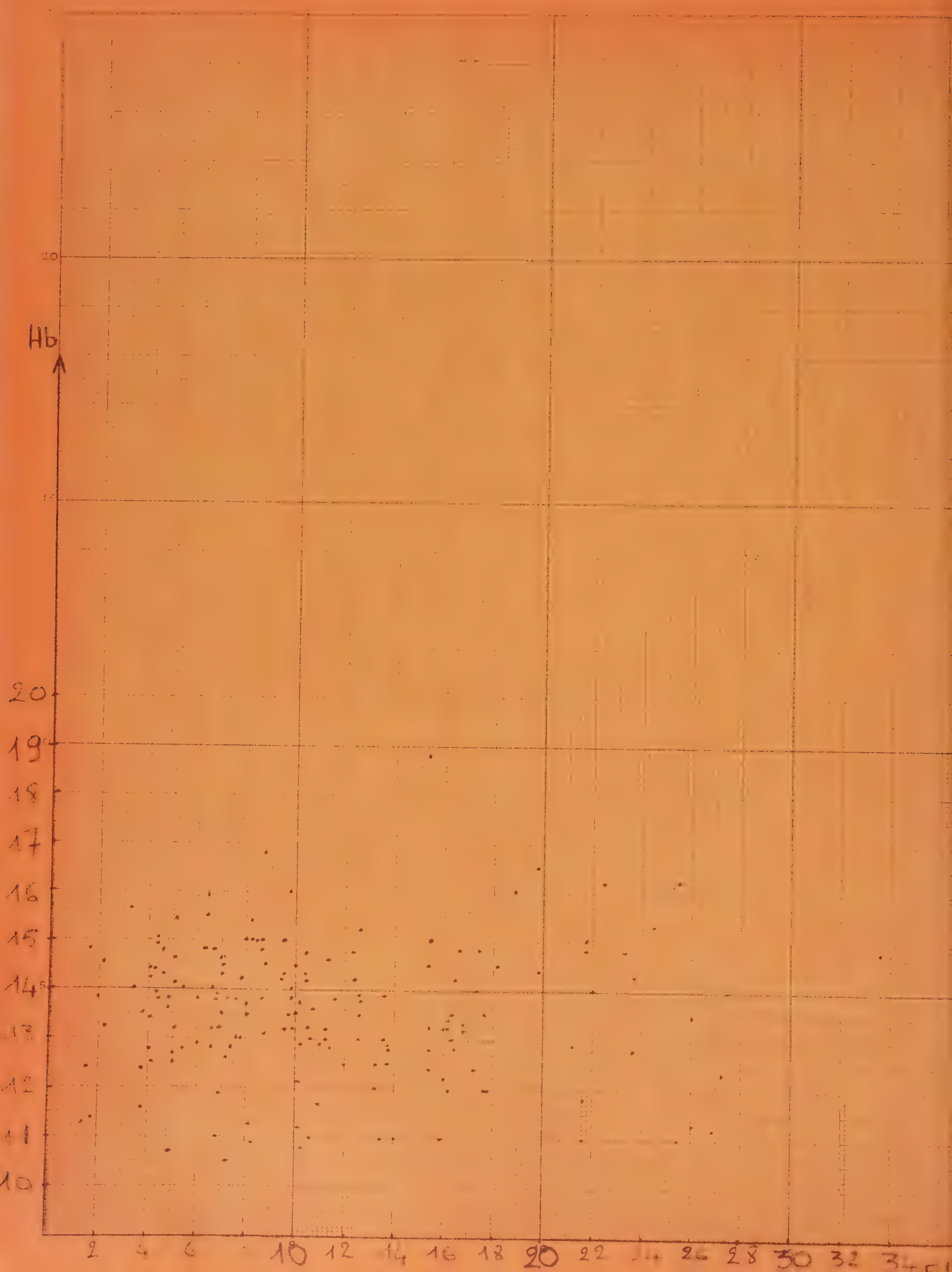
Il n'a pas été fait d'étude séparée selon le sexe. La population étudiée se compose en très grande majorité de femmes et statistiquement la différence serait peu significative.

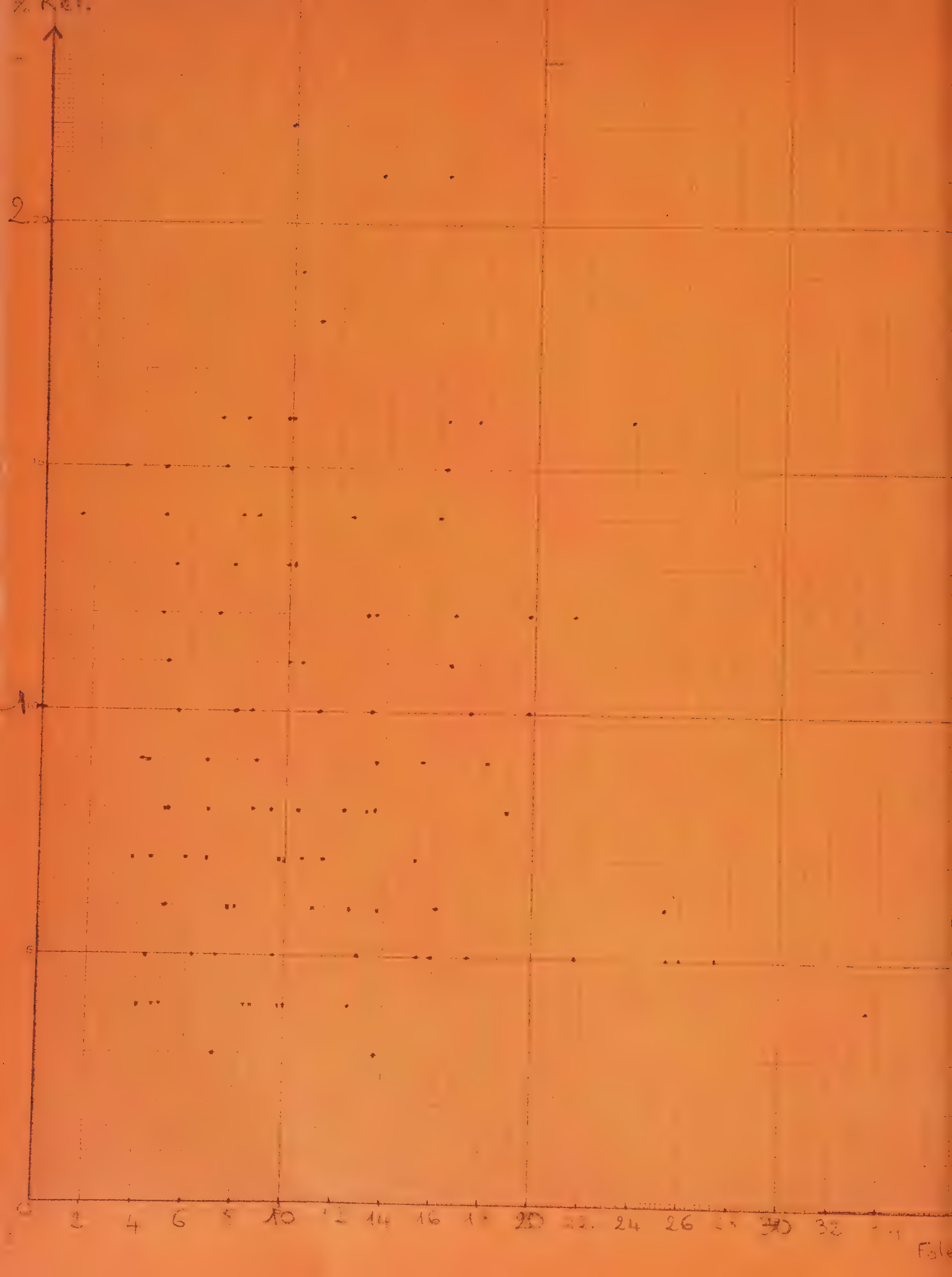
La valeur moyenne de l'hématocrite est de 42 % environ, ce qui correspond bien aux chiffres normaux chez la femme.

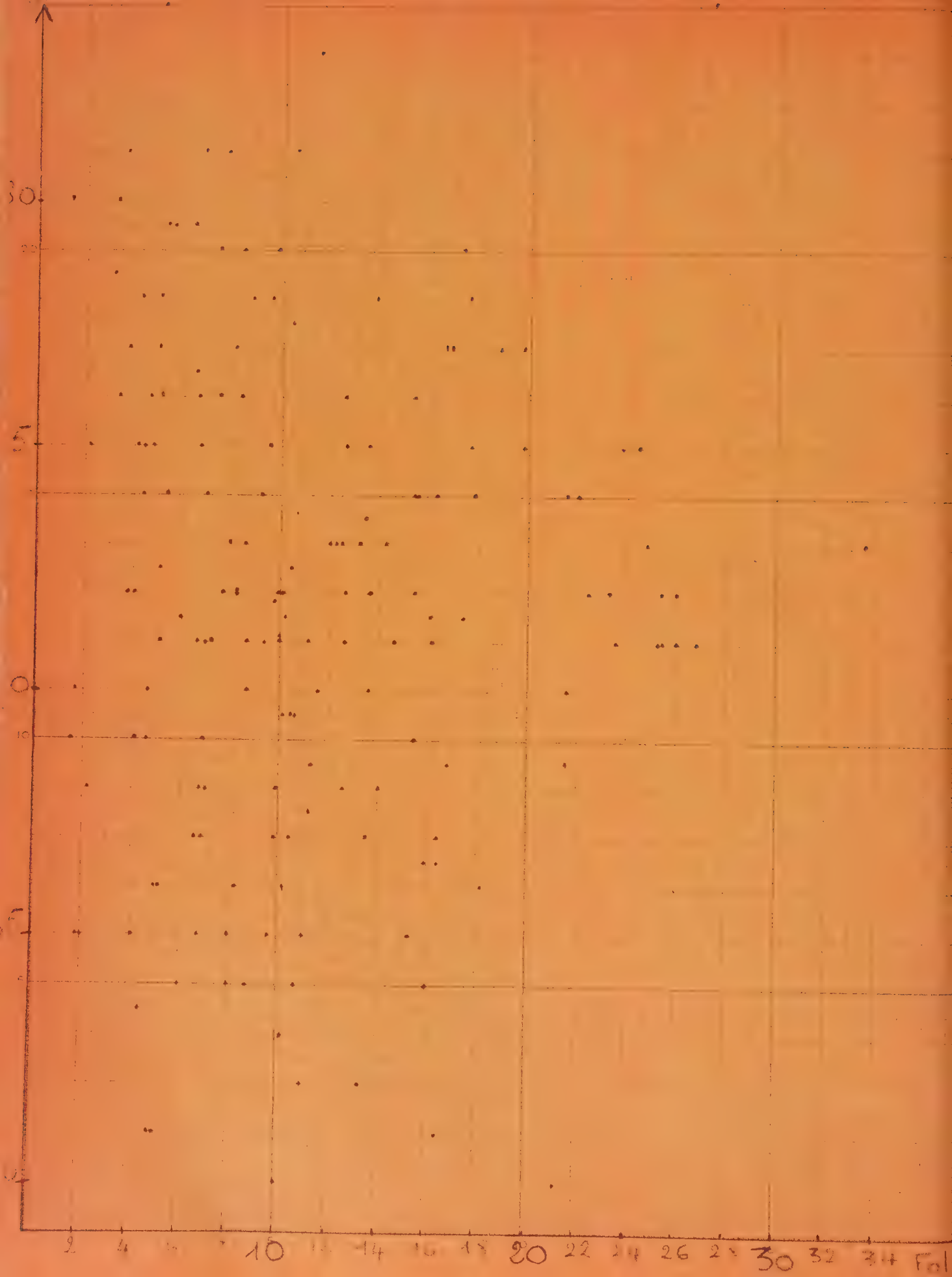
L'hématocrite reflétant à la fois le nombre d'hématies et le volume globulaire, il eut été logique de trouver une relation entre folémie et hématocrite, mais, là encore, la dispersion des valeurs est telle que l'on peu affirmer que l'hématocrite ne varie pas en fonction de la folémie.

.../...

Conc. Hb
Hematies
0,40
0,30
0,20
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
24
26
28
30
32
34


Hb
20
19
18
17
16
15
14
13
12
11
10
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
24
26
28
30
32
34


% Rel.
2
1
0
2
4
6
10
14
16
20
24
26
30
32
Fole


30
5
0
10
2
4
10
14
20
22
26
30
32
34
Fal

4/- Folémie et protidémie :

L'intervention de l'acide folique au cours de tous les processus de synthèse des acides nucléiques en particulier l'ARN laisse supposer que protidémie et folémie sont liées.

Les résultats obtenus dans notre étude ne viennent pas confirmer cette hypothèse. Les protidémies trouvées sont pratiquement toutes normales, alors que la folémie varie dans des proportions importantes.

5/- Folémie et réticulocytose :

L'interprétation des résultats est difficile. Les pourcentages de réticulocytes trouvés sont faibles et leur dispersion est peu importante. Les chiffres trouvés sont normaux, alors que les folémies sont très variées.

L'appréciation de la réticulocytose ne semble pas un test valable de diagnostic de carence folique. THIRKETTLE, l'utilise cependant dans son test thérapeutique, mais il s'agit là d'une épreuve dynamique très différente.

Il s'adresse à des sujets anéniques et mesure, non pas les pourcentages des réticulocytes, mais l'accroissement de ce pourcentage chez un même sujet avant et après traitement.

6/- Folémie et hémoglobinémie :

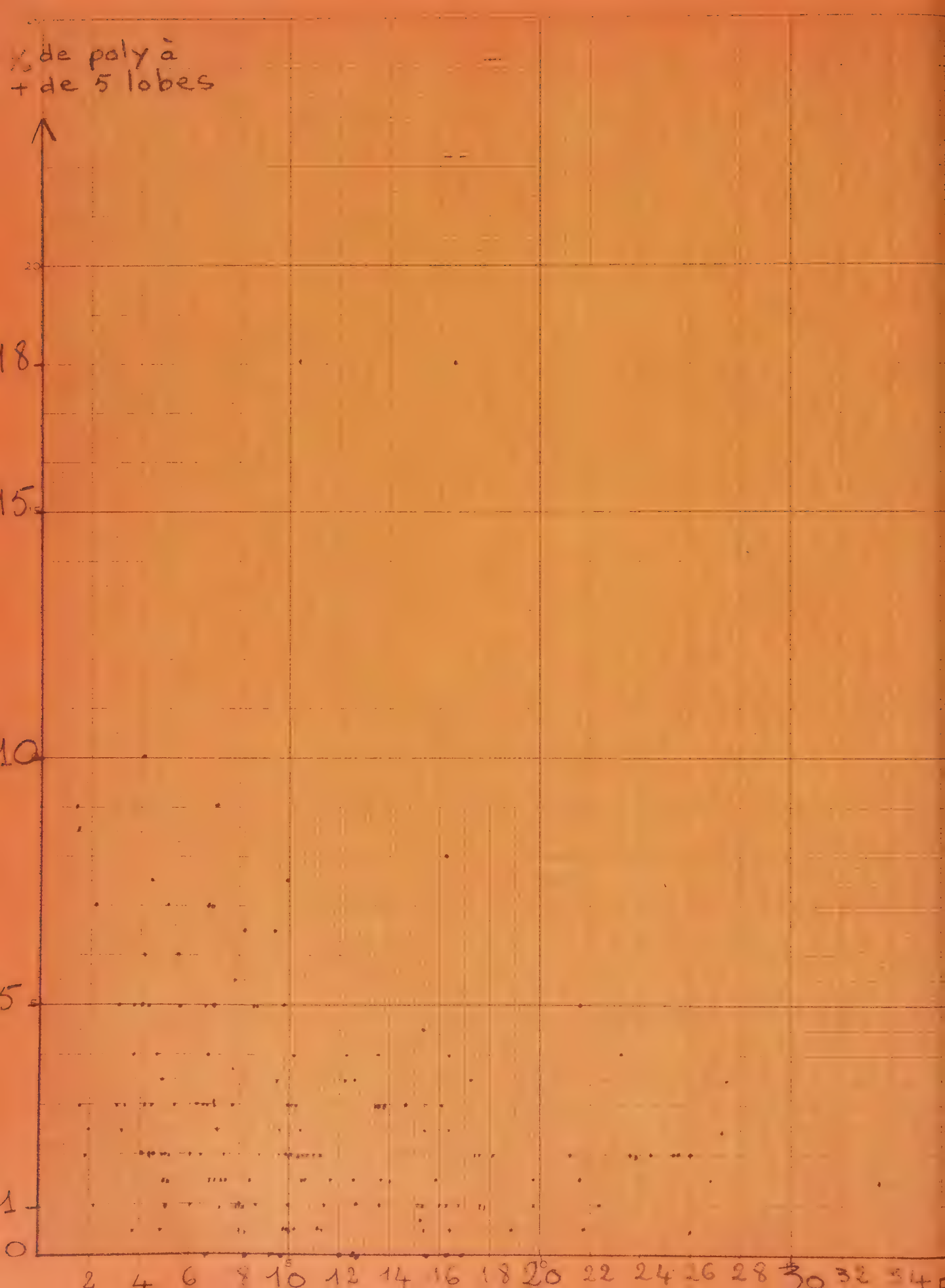
Il aurait fallu faire une distinction selon les sexes. L'importante proportion de femmes parmi les sujets étudiés permet cependant de conclure que les chiffres trouvés sont sensiblement plus élevés que la normale. A cette hémoglobinémie élevée, correspondent aussi bien des taux sériques bas que hauts.

La quantité d'hémoglobine totale est indépendante de la folémie.

7/- Folémie et teneur moyenne de l'hématie en hémoglobine :

Dépendant à la fois du nombre d'hématies et de l'hémoglobinémie, tous deux sans relations étroites avec la folémie, la teneur moyenne en hémoglobine de l'hématie devrait être indépendante du taux sérique d'acide folique. Les résultats trouvés confirment cette hypothèse en montrant que la teneur moyenne en hémoglobine de l'hémathie est indépendante de la folémie.

.../...


% de poly à
+ de 5 lobes
20
18
15
10
5
1
0
2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32 34

8/- Folémie et volume globulaire :

Les volumes globulaires trouvés dans cette étude semblent plus élevés que la valeur théorique de 88 μ^3, mais d'une façon tout à fait générale, la moyenne se situait à environ 92 μ^3.

Or, on sait que la carence folique donne une macrocytose et le pourcentage de volumes globulaires élevés devrait être plus important chez les sujets à folémie basse.

La proportion de grosses hématies est certes plus fréquente dans ce groupe, mais la différence n'est pas statistiquement significative.

9/- Folémie et pourcentage de polynucléaires à lobes multiples :

De nombreux auteurs attachent une grande importance à la détermination du nombre de polynucléaires à lobes multiples. Plusieurs méthodes, divers critères sont retenus. Tous s'accordent à dire que l'augmentation du nombre de lobes des noyaux traduit une transformation mégaloblastique.

Certains estiment qu'il y a transformation mégaloblastique lorsqu'il existe plus de 4 % de polynucléaires dont le noyau comporte plus de 4 lobes.

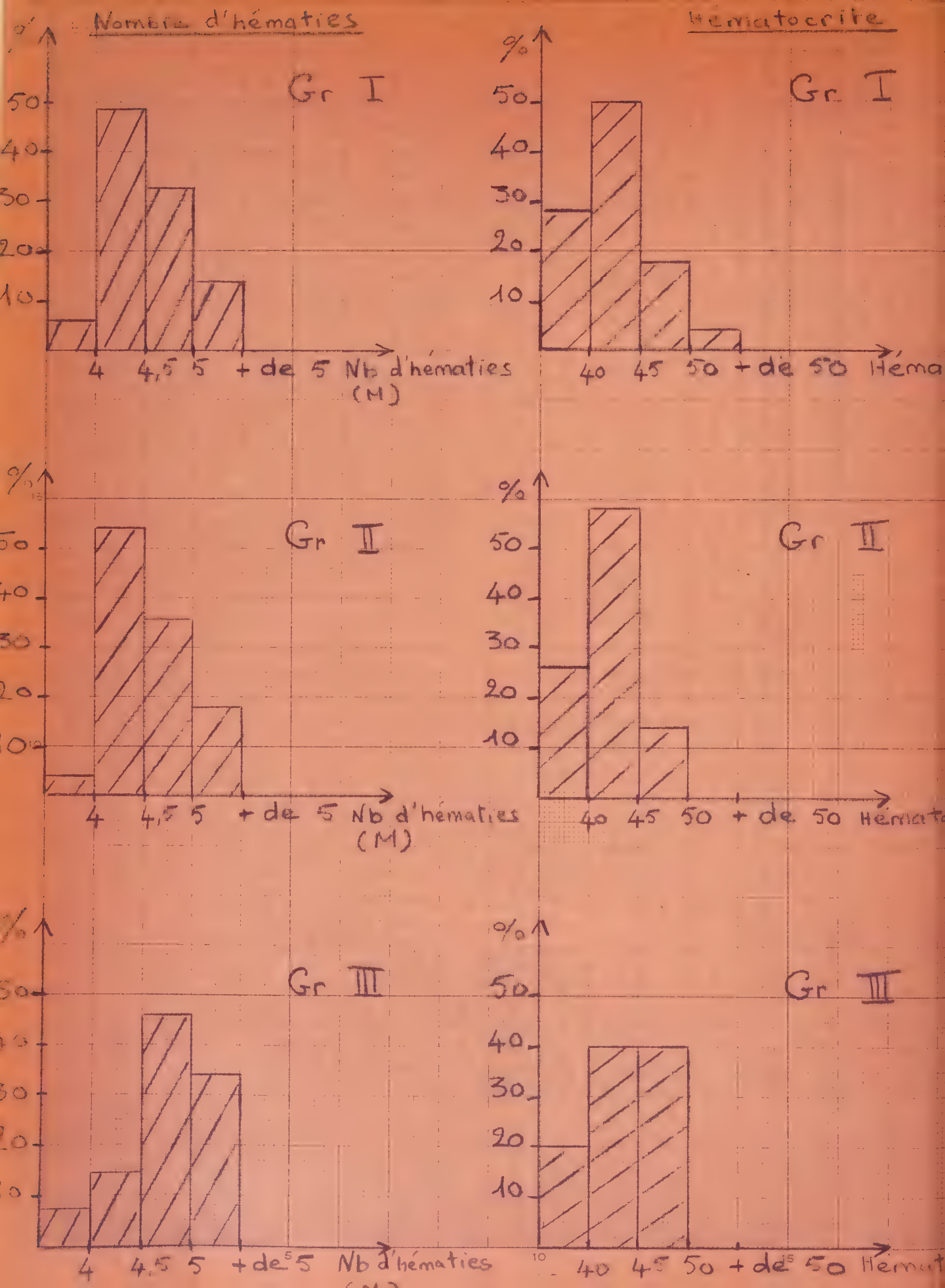
D'autres déterminent un indice de segmentation : on compte le nombre total de lobes de 100 ou de 200 polynucléaires et l'on divise par 100 ou 200.

Pour notre part, nous avons déterminé le pourcentage de polynucléaires dont les noyaux comptent cinq lobes ou plus.

Les résultats trouvés mettent en évidence l'existence d'une relation étroite entre folémie et nombre de lobes des noyaux des polynucléaires. Les plus forts pourcentages correspondent aux folémies basses alors que pour les taux sériques normaux ou élevés, le nombre de lobes est incontestablement moins élevé.

Il semble donc que cette détermination ait toute sa valeur comme test d'orientation dans la recherche des carences en acide folique.

.../...


Nombre d'hématies
Hématocrite
Gr I
Gr II
Gr III
%
50
40
30
20
10
4
4,5
5
+ de 5
Nb d'hématies
(M)
40
45
50
+ de 50
Hémat

IV - REPARTITION DES SUJETS EN TROIS GROUPES SELON LA FOLEMIE - ETUDE COMPARATIVE -

Les sujets ont été divisés en 3 groupes selon la valeur de la folémie :

- groupe 1 (N1) : folémie normale : plus de 5 γ/l à 20 γ/l
- groupe 2 (Bs) : folémie basse : taux inférieurs ou égaux à 5 γ/l
- groupe 3 (Ht) : folémie élevée : supérieure à 20 γ/l

La répartition des différents paramètres du bilan hématologique a été établie pour chacun de ces groupes, les chiffres étant donnés en pourcentage afin d'avoir des valeurs comparables (voir tableaux et courbes).

1/- Folémie et nombre d'hématies :

Groupes 1 et 2 :

La répartition est comparable dans ces 2 groupes. Le maximum se situe dans les 2 tranches de valeurs comprises entre 4 et 5 millions d'hématies/mm^3 (81,5 % contre 91,3 %).

Groupe 3 :

80 % des sujets ont plus de 4,5 millions d'hématies contre 46,4 % pour le groupe 1, et 55 % pour le groupe 2.

La différence est suffisamment importante pour être significative. L'élévation du taux sérique d'acide folique paraît entraîner un accroissement du nombre de globules rouges.

2/- Folémie et hématocrite :

Dans les 3 groupes, la répartition est sensiblement identique. Cependant, il faut remarquer que dans le groupe 3, 40 % des sujets ont un hématocrite supérieur à 45, pourcentage bien supérieur à celui rencontré dans les groupes 1 (22,7 %) et 2 (14,6 %).

L'hématocrite étant en partie fonction du nombre d'hématies, ces résultats viennent confirmer les précédents : à une folémie élevée correspond une valeur plus grande de l'hématocrite.

.../...

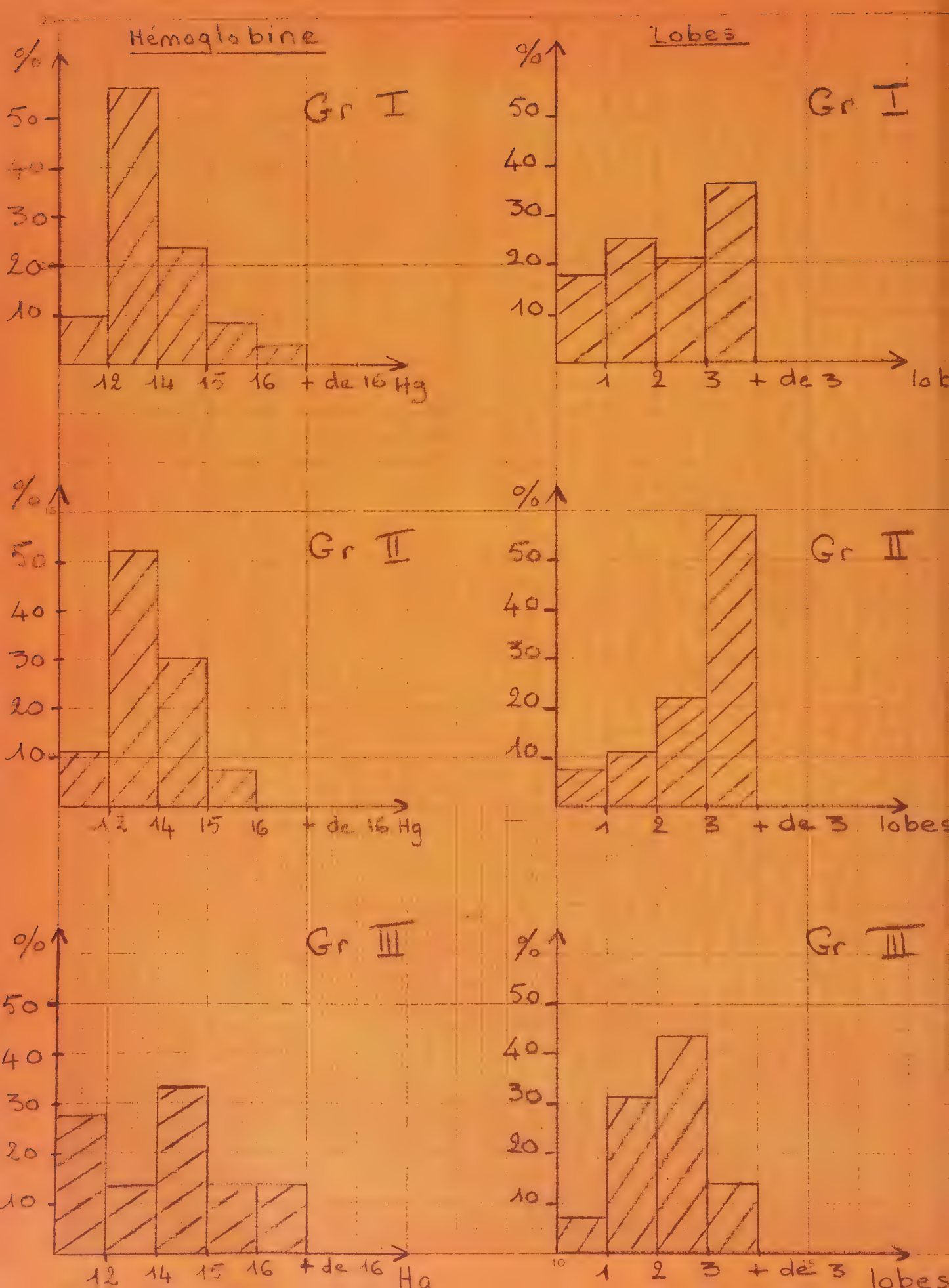
TABLEAU I

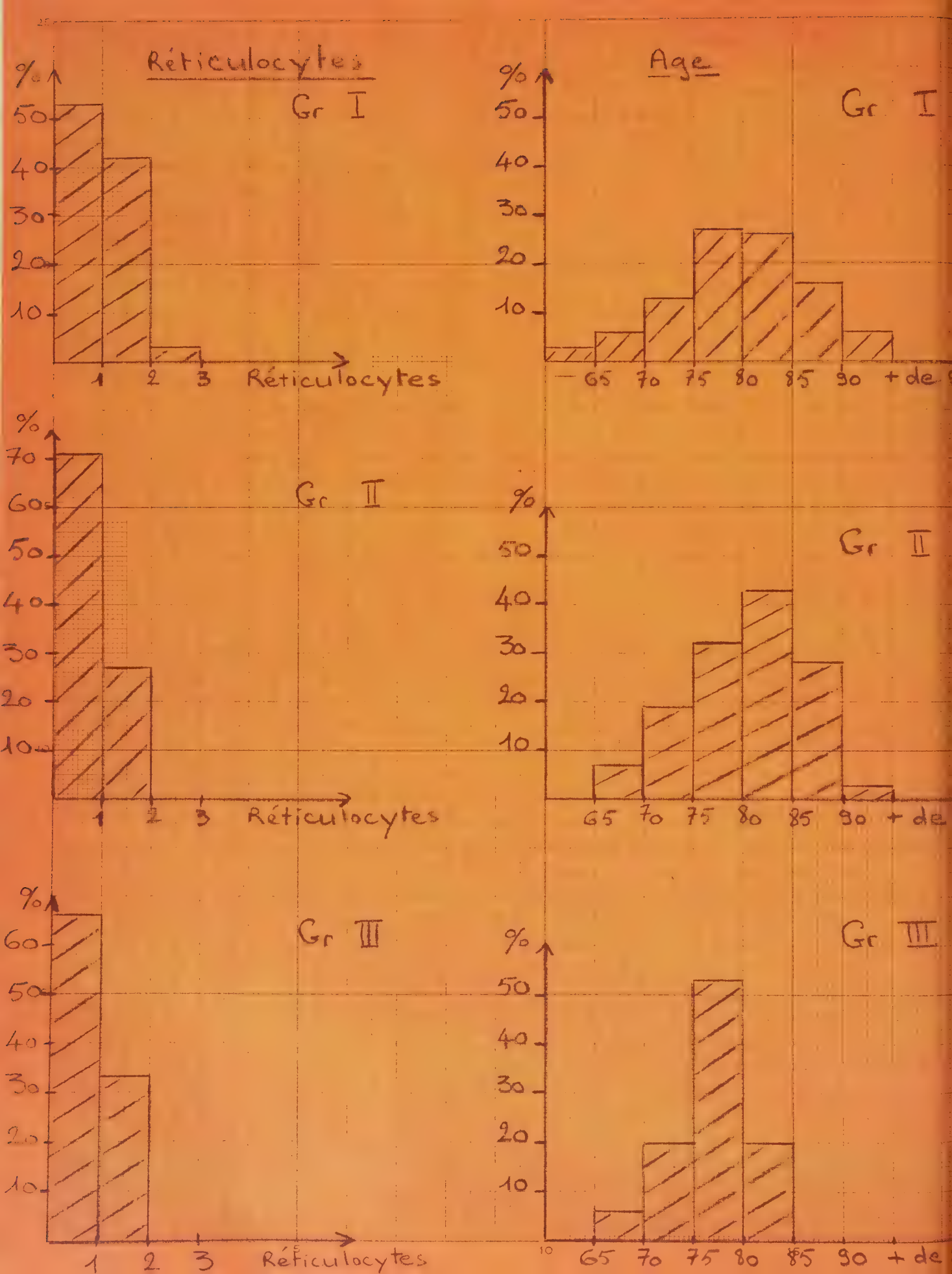
Hématies / folémie	moins de 4 millions	4 M à 4,5M	4,5 à 5 M	+ de 5 M	Effectif du groupe
Nl	6 5,55 %	53 49 %	34 32,5 %	15 13,9 %	108
Bs	1 4,6 %	12 54,5 %	8 36,8 %	4 18,2 %	22
Ht	1 7,7 %	2 14,4 %	6 46 %	4 34 %	13

TABLEAU II

Hématocrite / folémie	< 40	40 - 45	45 - 50	> 50	Effectif
Nl	35 27,8 %	67 50,1 %	24 18,2 %	6 4,5 %	132
Bs	7 26 %	16 59,3 %	4 14,6 %	0 0 %	27
Ht	3 20 %	6 40 %	6 40 %	0 0 %	15

.../...


Hémoglobine
Lobes
Gr I
Gr II
Gr III
%
50
40
30
20
10
12
14
15
16
+ de 16 Hg
1
2
3
+ de 3
lobes


Réticulocytes
Gr I
%
50
40
30
20
10
1
2
3
Réticulocytes
Age
Gr I
%
50
40
30
20
10
65
70
75
80
85
90
+ de
Gr II
%
70
60
50
40
30
20
10
1
2
3
Réticulocytes
Gr II
%
50
40
30
20
10
65
70
75
80
85
90
+ de
Gr III
%
60
50
40
30
20
10
1
2
3
Réticulocytes
Gr III
%
50
40
30
20
10
65
70
75
80
85
90
+ de

3/- Folémie et hémoglobinémie :

Il n'existe pas de différence très significative entre les trois groupes. Il semble toute fois que le pourcentage de sujets ayant une hémoglobinémie élevée soit un peu plus important dans le 3e groupe.

4/- Folémie et pourcentage de polynucléaires à noyaux plurisegmentés :

Les résultats obtenus viennent confirmer ce que l'on avait déjà vu. Il existe une augmentation très nette du nombre de polynucléaires à noyaux plurisegmentés dans le groupe 2 : 59,2 % des sujets ont plus de 3 % de polynucléaires dont les noyaux comportent plus de 5 lobes, soit approximativement le double de ce que l'on rencontre dans les groupes 1 et 3.

Il paraît nécessaire d'insister, cette fois encore, sur l'importance du dénombrement du nombre de lobes des noyaux des polynucléaires, ou encore, sur l'établissement de la formule d'ARNETH, dans le dépistage des carences foliques.

5/- Folémie et réticulocytose :

Il est difficile d'interpréter ces résultats. Le faible pourcentage de réticulocytes présents dans le sang des sujets étudiés, à quelque groupe qu'ils appartiennent, ne permet pas d'obtenir des différences statistiquement significatives. La recherche de la réticulocytose sanguine ne paraît pas être d'une grande importance dans la recherche du déficit en acide folique.

6/- Folémie et âge :

S'il n'existe pas de différence importante de la répartition des taux sériques d'acide folique en fonction de l'âge dans les groupes 1 et 2, il est remarquable de constater que les folémies élevées se rencontrent plus fréquemment chez des sujets moins âgés.

Dans le groupe 3 toutes les personnes ont moins de 85 ans, avec un maximum dans la tranche d'âge située entre 75 et 79 ans (moyenne : 76 ans 5 mois, contre 79 ans 8 mois pour les groupes 1 et 2).

.../...

TABLEAU III

Hb / folémie	10 - 12	12 - 14	14 - 15	15 - 16	16 et +	Effectif
N1	13 9,9 %	72 54,6 %	31 23,5 %	11 8,45 %	5 3,8 %	132
Bs	3 11,1 %	14 52 %	8 29,8 %	2 7,4 %	0 0 %	27
Ht	4 27,6 %	2 13,6 %	5 33,3 %	2 13,6 %	2 13,6 %	15

TABLEAU IV

% noyau + de 5 lobes / folémie	< 1	1 - 1,9	2 - 2,9	3 et +	Effectif
N1	23 18 %	32 25 %	27 21,1 %	46 35,9 %	128
Bs	2 7,4 %	3 11,1 %	6 22,2 %	16 59,2 %	27
Ht	1 7,15%	5 35,7 %	6 42,8 %	2 14,3 %	14

.../...

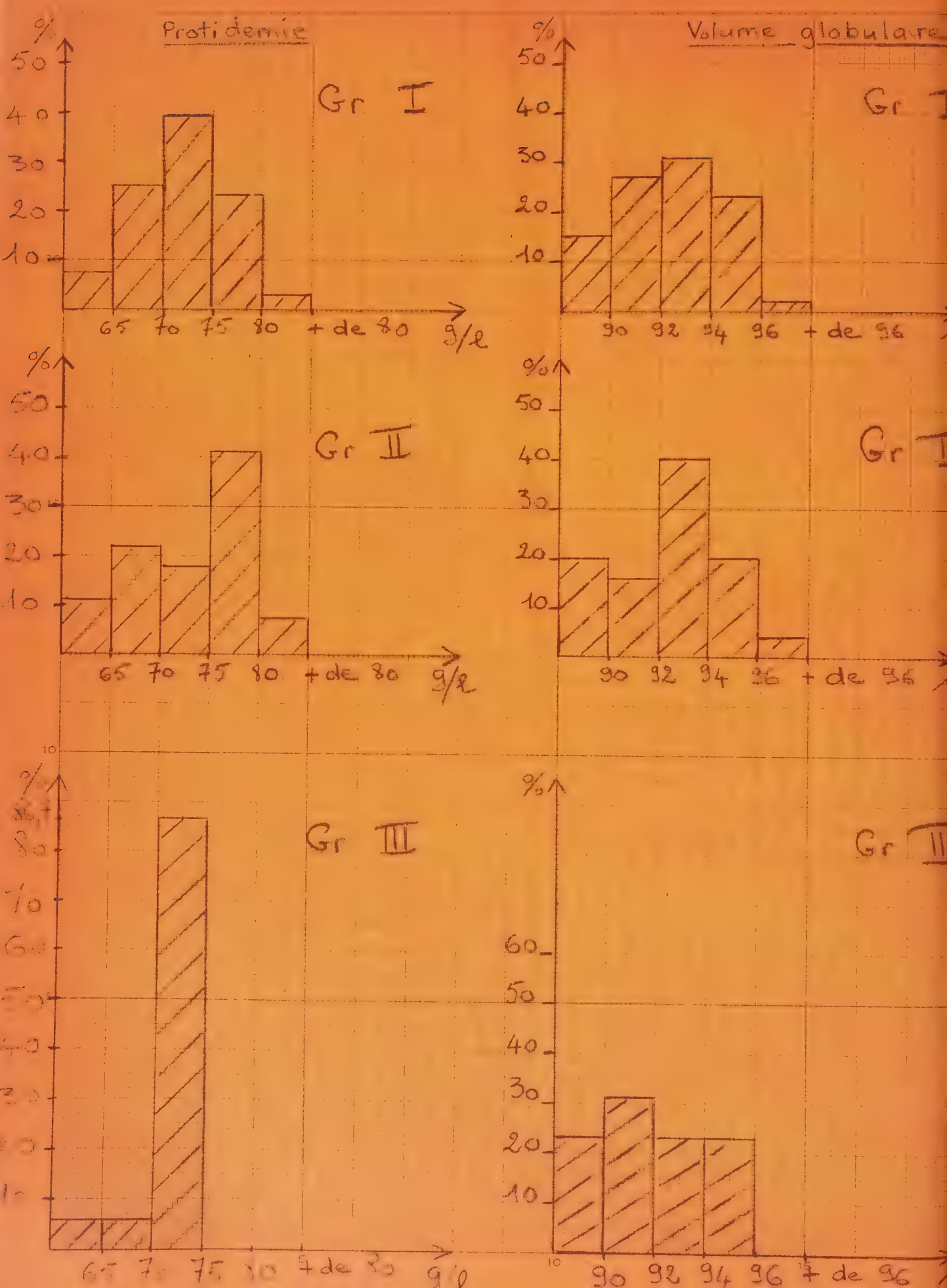
TABLEAU V

Rétiadcytes % / folémie	< 1	1 - 1,9	2 à 3	Effectif
N1	46 52,2 %	39 44,3 %	3 3,4 %	88
Bs	10 71,5 %	4 28,5 %	0 0 %	14
Ht	4 66,6 %	2 33,3 %	0 0 %	6

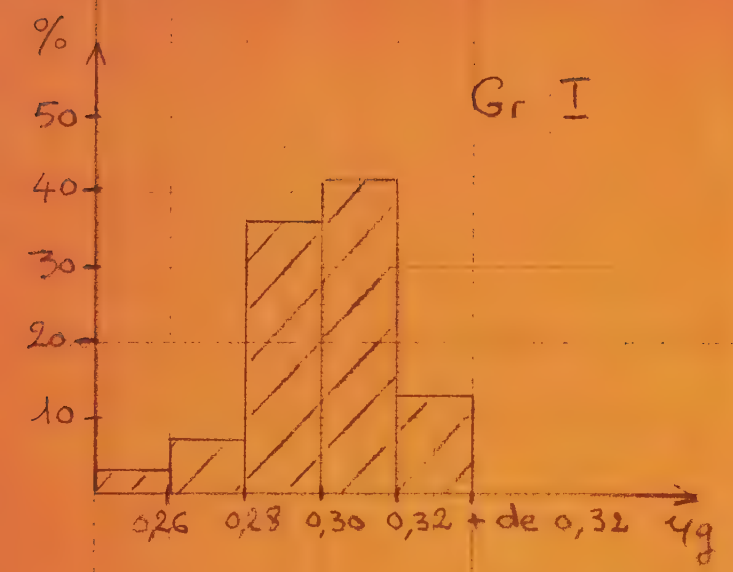
TABLEAU VI

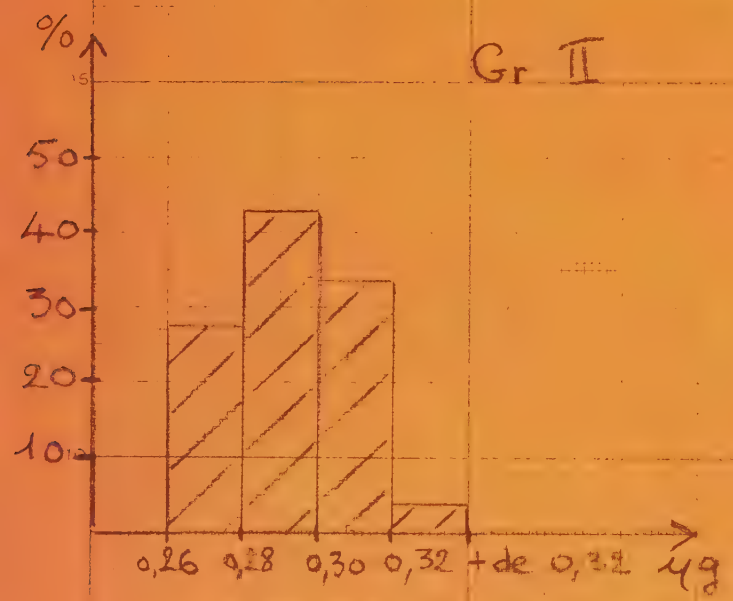
Age / folémie	< 65	65 - 69	70 - 74	75 - 79	80 - 84	85 - 90	+ de 90	Effectif
N1	4 3,01 %	8 6,03 %	17 12,8 %	36 27,2 %	35 26,5 %	22 16,7 %	8 6,03 %	132
Bs	0 0 %	2 7,4 %	4 14,8 %	6 22,2 %	9 33,3 %	5 18,5 %	1 3,7 %	27
Ht	0 0 %	1 6,66 %	3 20 %	8 53,4 %	3 20 %	0 0 %	0 0 %	15

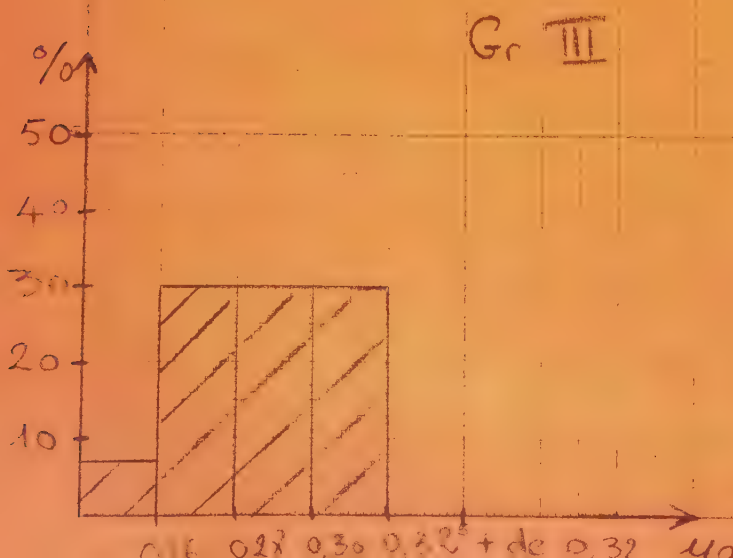
.../...


Protidemie
Volume globulaire
Gr I
Gr II
Gr III
%
50
40
30
20
10
65
70
75
80
+ de 80
g/l
90
92
94
96
+ de 96

Concentration moyenne de l'hématie en hémoglobine







7/- Folémie et protidémie :

La répartition ne présente pas de différence selon la folémie. Tout au plus peut-on remarquer que parmi les sujets ayant des taux sériques élevés d'acide folique il n'y a pas de protidémies supérieures à la normale : chez aucun sujet elle ne dépasse 75 g/litre.

8/- Folémie et volume globulaire :

Il semble que le pourcentage de grosses hématies soit plus important chez les sujets à folémie basse : 64 % ont un volume globulaire égal ou supérieur à 92 μ^3.

En revanche, les deux autres groupes présentent une répartition semblable, 48,1 % dans le groupe 1 et 46 % dans le groupe 3 de volume globulaire égal ou supérieur à 92 μ^3.

La différence est donc notable (15 à 18 %) mais n'est pas assez importante pour permettre de conclure avec certitude.

9/- Folémie et teneur moyenne de l'hématie en hémoglobine :

Les deux grandeurs sont parfaitement indépendantes l'une de l'autre.

La répartition dans les 3 groupes est identique et correspond à une distribution normale.

.../...

TABLEAU VII

Protidémie / folémie	<65	65 - 69,9	70 - 74,9	75 - 79,9	80 et +	Effectif
Nl	11 8,3 %	33 25 %	51 38,7 %	30 22,7 %	7 5,3 %	132
Bs	3 11,1 %	6 22,2 %	5 18,5 %	11 40,7 %	2 7,4 %	27
Ht	1 6,66 %	1 6,66 %	13 86,7 %	0 0 %	0 0 %	15

TABLEAU VIII

Volume globulaire / folémie	< 90	90 - 91,9	92 - 93,9	94 - 96	+ de 96	Effectif
	16 14,7 %	30 27,5 %	34 31,5 %	26 23,9 %	3 2,75 %	109
	5 20 %	4 16 %	10 40 %	5 20 %	1 4 %	25
	3 23 %	4 30,8	3 23 %	3 23 %	0 0 %	13

.../...

TABLEAU IX

TM.Hb.H / folémie	< 0,26	0,26-0,279	0,280-0,299	0,3 - 0,32	> 0,32	Effectif
N1	3 2,8 %	8 7,5 %	39 36,5 %	43 41 %	14 13,1 %	107
Bs	0 0 %	4 17,4 %	10 43,5 %	8 34,8 %	1 4,35 %	23
Ht	1 7,7 %	4 30,4 %	4 30,4 %	4 30,4 %	0 0 %	13

.../...

V - CONCLUSION -

Il faut noter la fréquence non négligeable de sujets à taux sériques d'acide folique bas : 27 personnes sur les 174 étudiées, soit 15,5 %, ont une folémie inférieure ou égale à 5 γ/l.

Chez 15 sujets, la folémie a été trouvée supérieure à 20 γ/l, soit 8,8 %.

L'étude des corrélations entre la folémie et les divers éléments du bilan hématologique montre que folémie et segmentation du noyau des polynucléaires sont intimement liées.

Le volume globulaire est plus élevé parmi les sujets à folémie basse mais la différence, trop peu importante, ne permet pas de conclure avec certitude.

.../...

CONCLUSIONS

Parmi les facteurs de l'hématopoïèse, l'acide folique occupe une place particulièrement importante. On doit insister sur ses rapports avec le métabolisme de la vitamine B 12 et le métabolisme général où il intervient au titre de donneur de radicaux monocarbonnés.

Plus que celui de tout autre facteur de l'hématopoïèse, son cycle est facile à perturber, notamment sous l'influence de certaines médications ou intoxications (anticonvulsivants, alcoolisme).

La carence en acide folique est fréquente au cours de la grossesse et des stéatorrhées. Au cours de la sénescence, les conditions d'une carence semblent également réunies en raison du ralentissement notable des processus métaboliques, de la grande fréquence des troubles digestifs, des mauvaises conditions de nutrition.

Cependant, les différentes publications consacrées à ce sujet, fournissent des chiffres très différents. Sans doute, les populations étudiées étaient-elles très différentes selon les auteurs, notamment quant à l'état psychique et aux habitudes alimentaires des sujets explorés.

Nous avons déterminé le taux sérique d'acide folique sur une population de personnes âgées vivant en communauté et soumises à un régime uniforme. Les porteurs d'anomalies hématologiques étaient systématiquement écartées de ce travail.

Comparée aux chiffres obtenus chez trente sujets jeunes, la répartition chez 174 personnes âgées, apparaît très différente. La dispersion est plus grande (écart-type : 4,97 contre 2,66), mais la moyenne est identique (10,5γ/l contre 10,7γ/l).

Sur les 174 sujets, 27 ont un taux sérique d'acide folique inférieur ou égal à 5γ/l et 15, un taux supérieur ou égal à 20γ/l. L'existence d'une telle carence chez plus de 15 % de sujets âgés exempts de troubles hématologiques, mérite d'être soulignée.

.../...

Nous n'avons pas trouvé de corrélation étroite entre la folémie et :

- le nombre d'hématies,
- l'hématocrite,
- le taux d'hémoglobine,
- le pourcentage des réticulocytes,
- le taux des protéines,
- la teneur moyenne de l'hématie en hémoglobine,
- l'âge des sujets (pendant plusieurs décades au-dessus de 65 ans).

Le volume globulaire est en moyenne plus élevé au cours des carences latentes en acide folique sans que, toutefois, la différence soit statistiquement significative.

Par contre, une corrélation très significative existe entre les folémies basses et le pourcentage de polynucléaires à lobes multiples. Ce simple signe devrait inciter à rechercher systématiquement une carence en acide folique.

V U

et PERMIS D'IMPRIMER

LE RECTEUR
DE L'ACADEMIE DE PARIS

B. M A L L E T

Le Doyen Honoraire
Administrateur Provisoire
de la Faculté de Médecine

G. B R O U E T

Monsieur le Professeur Agrégé

G. S C H A P I R A

BIBLIOGRAPHIE

(1) I. CHANARIN, D. ROTHMAN, A. WARD, J. PERRY, D. STRATTFULL.

Normal dietary folate, iron, and protein intake with particular reference to pregnancy.
B.M.J. 2, 394, 1968.

(2) A.D.F. HURDLE.

Thesis (University of LONDON) 1967.

(3) C.E. BUTTERWORTH, R. SANTINI Junior, W.B. FROMMEYER.

The pteroylglutamate components of American diets as determined by chromatographic fractionation.
J. Clin Invest 42, 1929, 1963.

(4) E.W. TOEPFER, E.G. ZOOK, M.L. ORR.

Folic acid content of foods.
Agriculture Handbook N° 29, 1951.

(5) A.S.V. BURGEN, N.J. GOLDBERG.

Absorption of folic acid from the small intestine of the rat.
Br. J. Pharm. 19, 313-320, 1962.

(6) Janet PERRY, I. CHANARIN.

Absorption and utilisation of polyglutamyl forms of folate in man.
B.M.J. 4, 546-49, 1968.

(7) I.H. ROSENBERG, R.R. STREIFF, H.A. GODWIN, W.B. CASTLE.

Absorption of polyglutamic folate : participation of deconjugating enzymes of the intestinal mucosa.
The new Eng. fl. Med. 280.18, 985-988, 1969.

.../...

(8) Th.M. BAYLESS.

Intestinal deconjugation of dietary folate.
New Eng. jl. Med. 280.18, 950, 1969.

(9) A.S. MATTY, J.A. BLAIR.

Lancet 2, 977, 1968.

(10) V. HERBERT.

Absorption of vitamin B 12 and folic acid.
Gastro Enterology Vol. 54 N° 1, 110-115, 1968.

(11) Editorial.

Folate deficiency in the elderly.
B.M.J. 2, 652, 1967.

(12) V. HERBERT.

Studies of folate deficiency in man.
Proced. Royal Soc. Med. 57.5, 377, 1964.

(13) S.J. BAKER, S. KUMAR, S.P. SWAMINATHA.

Excretion of folic acid in bile.
Lancet 7387, 685, 1965.

(14) E.L.R. STOKSTAD, J. KOCH.

Folic acid metabolism.
Physicological Review 47.1, 83.116, 1967.

(15) K.O. DONALDSON, J.C. KERESZTESY.

Naturally occuring forms of folic acid. I : "Prefolic A" : preparation of concentrate and enzymatic conversion to citrovorum factor.
J. Biol. Chem. 234, 3235, 1959.

(16) B.E. WRIGHT, M.L. ANDERSON.

Folic acid reductase.
J. Am. Chem. Soc. 79, 2027, 1957.

.../...

(17) R. ZALUSKY, V. HERBERT.

Megaloblastic anemia in scurvy with response to 50 micrograms of folic acid daily.
New Eng. J. Med. 265, 1033, 1961.

(18) T. NEGATSU, M. LEVITT, S. UNDENFRIEND.

Properties of the mammalian tyrosine hydroxylase associated with norepinephrine biosynthesis.
Federation. Proc. 23, 480, 1964.

(19) D.D. WOODS.

Biological aspects : Metabolic relation between p. aminobenzoïc acid and folic acid in micro organisms.
In. Ciba Found. Symp. Chem. Biol. Pteridines.
Edit. : G.E.W. WOLSTENHOLME, BOSTON - 1954.

(20) G.M. BROWN, R.A. WEISMAN, D.A. MOLNAR.

The biosynthesis of folic acid. I : Substrate and cofactor requirements for enzymatic synthesis by cell-free extracts of E. Coli.
J. Biol. Chem. 286, 2534, 1961.

(21) F. WEYGAND, H. SIMON, G. DAHMS, ...

Uber die biogenese des leucopterins.
Angew. Chem. 73, 402, 1961.

(22) J.J. REYNOLDS, G.M. BROWN.

Enzymatic formation of the pteridine moiety of folic acid from guanosine compounds.
J. Biol. Chem. 237, 2713, 1962.

(23) R. HAHNEL.

Determination of folic acid in urin by paper chromatography following acid injection.
Klin. Wochscher. 36, 828, 1958.

.../...

(24) R. NORDMAN, O. GAUCHERY, DURUISSEAU, etc...

Chromatographie sur papier des acides organiques non volatils des liquides biologiques. Le chromatogramme qualitatif de l'urine humaine.
Bull. Soc. chim. biol. 36, 1641, 1954.

(25) V. ALLFREY, L.S. TEPLY, T.C. GEFFEN, C.G. KING.

A fluorometric method for the determination of pteroylglutamic acid.
J. Biol. Chem. 178, 465, 1949.

(26) HUTCHINGS, STOKSTAD, BOUTH...

A chemical method for the determination of pteroylglutamic acid and related compounds.
J. Biol. chem. 168, 705, 1947.

(27) H.R. OLIVIER.

Méthode microbiologique.
Tome I., p. 512, 513.

(28) B.M. BRAGANCA, ARAVINDAKSHANI, GHANEKAR.

Enzymic cleavage of folic acid by extracts from human blood cells. Preparation and co-factor requirements of the enzymic system.
Biochem. and Biophysi. Acte 25, 623, 1957.

(29) J. DELZENNE, D. AYMARD.

L'acide formiminoglutamique.
Gaz. Med. France 75.9, 1837, 1965.

(30) H. TABOR, L. WYNGARDEN.

A method for the determination of formiminoglutamic acid in urin.
J. Clin. Inv. 37, 824, 1958.

(31) E. D. HIBARD.

Figlu excretion test and defective acid metabolism in pregnancy.
Lancet 2, 1146, 1964.

.../...

(32) I. CHANARIN, BENNETT.

A spectrophotometrie method for estimating formiminoglutamic acid and urocanic acid.
B.M.J. 1, 27, 1962.

(33) J.P. KNOWLES, J.A.S. PRANKERD, R.G. WESTALL.

Simplified method for detecting formiminoglutamic acid in urin as a test of folic acid deficiency.
Lancet 2, 347, 1960.

(34) J. KOHN, D.L. MOLLIN, L.M. ROSENBACH.

Conventional voltage electrophoresis for formiminoglutamic acid determination in folic acid deficiency.
J. Chim. Path. 17, 466, 1964.

(35) G.H. SPRAY, L.S. WITTS.

Excretion of formiminoglutamic acid as an index of folic acid deficiency.
Lancet 2, 702, 1959.

(36) J.L. THIRKETTLE, K.R. GOUGH, A.E. READ.

Diagnostic value of small oral doses of folic acid in megaloblastic anemia.
B.M.J. 1, 1286, 1964.

(37) K. CERNY.

Partition paper chromatography of somes vitamins B and their polarography determination in biological material.
Anal. Chemikri. I. Kouf Prag. S, 279, 1959.

(38) K. IWAI, S. NAKAGAWA.

Folic acid groups in plant timies. Isolation and identification of folic acid groups in green leaves.

(39) D.L. MOLLIN, A.V. HOFFBRAND.

Les déficits en acide folique. Mécanismes et méthodes d'étude. Progrès en hématologie. B. DREYFUS. Flammarion 1967.

.../...

(40) D.J. DELLER, R.N. IBBOTSON, CROMPTON.

Metabolic effects of partial gastrectomy with special reference to calcium and folic acid. Part. II.
Gut 5, 225, 1964.

(41) K.R. GOUCH, A.E. READ, J.L. THIRKETTLE.

Folic and deficiency in patients after gastric resection.
Quart. J. Med. 34, 1, 1965.

(42) D.L. MOLLIN, J.D. HINES.

Late post-gastrectomy syndromes.
Proc. Roy. Soc. Med. 57, 575, 1964.

(43) I. CHANARIN, B.B. ANDERSON, D.C. MOLLIN.

The absorption of folic acid.
Brit J. Haemat . 4, 156, 1958.

(44) G.R. THOMPSON, B. LEWIS, C.C. BOOTH.

Vitamin D absorption after partial gastrectomy.
Lancet 1, 457, 1966.

(45) J.D. HINES, A.V. HOFFBRAND, D.S. YOUNG, D.L. MOLLIN.

The incidence and aetiology of anemia in post-gastrectomy patients.

(46) D.L. MOLLIN, G.I.M. ROSS.

Vitamine B 12 deficiency in the megaloblastic anemias.
Proc. Roy. Soc. Med. 47, 26, 1954.

(47) M.J. MEYNELL, W.J. COOKE, E.V. COX, R. GADDIE.

Serum cyanocobalamin level in chromic intestinal disorders.

(48) G.I.M. ROSS, D.L. MOLLIN.

Vitamin B 12 in tissues in pernicious anemia and other conditions
In 1er Symp Europ sur la vitamine B 12 et le facteur intrinsèque
HAMBOURG 1956.
STUTTGART 1957, P 437 - Enke Edit.

.../...

(49) D.L. MOLLIN, C.C. BOOTH, I. CHANARIN.

The pathegenois of deficiency of vitamin B 12 in idiopathic steatorrhea.
C.R. Cong Mond gastro enterologie, WASHINGTON 1958.
Baltimore 1958 p 483, Williams and Wilkins Edit.

(50) W.T. COOKE, D.J. FONE, E.J. COX, M.J. MEYNELL, R. GADDIE.

Acute folic deficiency of unknown aetiology : temperate sprue.
Gut 4, 292, 1963.

(51) B.B. ANDERSON, E.H. BELCHER, I. CHANARIN, D.L. MOLLIN.

The urinary and faecal excretion of radioactivaty after oral doses of 3 H - folic acid.
Bret. J. Haemat, 6, 439, 1960.

(52) K.M. DORMANDY, A.M. WATERS, D.L. MOLLIN.

Folic acid deficiency in coeliac disease.
Lancet 1, 632, 1963.

(53) I. CHANARIN, D.L. MOLLIN, B.B. ANDERSON.

Folic acid deficiency and the megaloblastic anemias.
Proc. Roy. Soc. Med. 51, 757, 1958.

(54) R.H. GIRWOOD.

Folic acid, its analogs and antagonists.
Advane. Chim. Chem. 3, 235, 1960.

(55) D.G. KINNEAR, D.G. SOHNS, P.C. MAC INTOSH, A.S.V. BURGEN, D.G. CAMERON.

Intestinal absorption of tritium labeled folic acid in idiopathic steatorrhea. Effect of a gluten free diet.
Canad. Med. Ass. J. 89, 975, 1963.

(56) A.V. HOFFBRAND, T.F. NECHELES, M. MALDONADO, E. HORTA, R. SANTINI.

Malabsorption of folate polyglutamates in tropical sprue.
B.M.J. 2, 543, 1969.

.../...

(57) T.W. SHEEMY, M.E. ROBINI, E. SANTIAGO, R. SANTINI, J. HADDOCK.

The effect of "minute" and "titrated" amounts of folic acid on the megaloblastic anemia of tropical sprue.
Blood 18, 623, 1963.

(58) C.C. BOOTH, D.L. MOLLIN.

Chronic tropical sprue in LONDON.
Amer. J. dig. Dis. 9, 770, 1964.

(59) J.M. FRENCH, E.R. GADD, N.M. SMITH.

Tropical sprue.
Quart. J. Med. 25, 333, 1956.

(60) R. GUERRA, M.S. WHEBY, B. BAGGS, T.M. BAYLESS.

Long term antibiotic therapy in tropical sprue.
Ann. J. dig. dis. 9, 804, 1964.

(61) I. CHANARIN, M. BENNETT.

Absorption of folic acid and d. xylose as tests of small intestinal fonction.
B.M.J. 1, 985, 1962.

(62) Ed. SCHULLER.

Le métabolisme de l'acide folique et le Figlu.
Presse médiacle 73, N° 24, 1411, 1965.

(63) LAROCHE, NAVARRO, etc...

L'activité folique sérique dans les hépato-stéatoses et les cirrhoses éthyliques.
Sem. Hop. 45, 633, 1969.

(64) J.H. JANDL, A.A. LEAR.

The metabolims of folic acid in cirrhosis.
Ann. Int. Med. 45, 1027, 1956.

.../...

(65) J.R. BERTINO, J. WARD, A.C. SARTORELLI, R. SILDER.

An effect of ethenol on folate metabolism.
J. Clin. Invest. 44, 1028, 1965.

(66) L.W. SULLIVAN, V. HERBERT.

Suppression of hematopoïesis by ethanol.
J. Clin. Invest. 42, 985, 1963.

(67) T. ARAKAWA, K. OHARA, R. KAKISAKI, Y. TAKAHASHI, K. HIRATA, M. FUSIL, T. RONNO, T. MORIKAWA, F. CHIBA, R. CHIBA.

Folic acid deficiency in hemochromatosis probably due to a defective storage of folic acid in the liver.
Tohoku. J. Exp. Med. 86, 301, 1966.

(68) C.M. LEEVY, H. BAKER, W. TEN HOVE, O. FRANK, G.R. CHERRUCK.

B-Complex vitamins in liver disease of the alcoholic.
Amer J. Chim. Nutr. 16, 339, 1965.

(69) J. FLEXNER, R. HARTMAN.

Megaloblastic anemia associated with anticonvulsivants drugs.
Am. J. Med. 28, 386, 1960.

(70) B. DREYFUS.

Grossesse et déficit en acide folique.
Presse Med. 76, P. 1163, 1968.

(71) A. LEMONNIER et coll.

Les bases biochimiques et analytiques du métabolisme de l'histidine.
Ann. Pediatrie 40, 660/156, 1964.

(72) MOZICONACCI et coll.

Troubles du métabolisme de l'histidine induit par la thérapeutique anticonvulsivante au cours d'une encéphalopathie myoclonique familiale.
Ann. Pédiatrie 40, 680/176, 1964.

.../...

(73) M.L. STONE, A.L. LUHBY, R. FELDMANN.

Folic acid metabolism in pregnancy.
Amer. Jour. Obst. Gym. 99.5, 638, 1967.

(74) H.C. GRANT, A.V. HOFFBRAND, D.G. WELLS.

Lancet, Vol. 11, N° 7416, 763-767, 1965.

(75) P. CASTAIGNE, A. MOREL-MAROGER, D. LAPLANE, A. LEMONNIER.

L'épreuve de charge en histidine comme test de carence en acide folique dans les affections nutritionnelles du système nerveux.

Ann. Méd. Int. 120, N° 8-9, P. 479-494, 1969.

(76) S.L. CLARK Junior.

Oral folic acid tolerance test in normal human subject and patients with pernicious anemia.
Proc. Soc. Exp. Biol. 82, 25, 1953.

(77) S. VARALDI, A. ELWIS.

Folate deficiency in the elderly.
B.M.J. 3, 112, 1967.

(78) Editorial.

Folate deficiency in the elderly.
B.M.J. 2, 652, 67.

(79) R.M. MORGAN.

Anemia in elderly housebound patients.
B.M.J. 4, 171, 1967.

(80) J. ANDREWS.

Folate deficiency in the elderly.
B.M.J. 3, 244, 1967.

.../...

(81) J. ANDREWS.

Folate deficiency in the elderly.
B.M.J. 4, 113, 1967.

(82) Editorial.

Folate deficiency in the elderly.
B.M.J. 2, 652, 1967.

(83) A.J. GARDNER.

Folate deficiency in the elderly.
B.M.J. 3, 436, 1967.

(84) W. DAVISON.

Anemia in the elderly with special reference to iron deficiency.
Gerontal. Chim. 9, 493, 1967.

(85) P.K. BUXTON, W. DAVISON, E.E. HYAMS, W.S. IRWINE.

Vitamin B 12 status in mentally disturbed elderly patients.
Gerent. Clinica. 11, 22, 1969.

(86) A.D.F. HURDLE, T.C.P. WILLIAMS.

Folic acid deficiency in elderly patients admitted to hospital.
B.M.J. 2, 202, 1966.

(87) M. BATATA, G.M. SPRAY, F.G. BOLTON, G. HIGGINS, L. WOLLNER.

Blood and bone-marrow changes in elderly patients with special reference to folic acid, vitamin B 12, iron and ascorbic acid.
B.M.J. 2, 667, 1967.

(88) R.H. GIRDWOOD, A.D. THOMSON, J. WILLIAMSON.

Folate status in the elderly.
B.M.J. 2, 670, 1967.

.../...

(89) V. HERBERT.

Experimental nutritional folate deficiency in man.
Trous. Ass. amer. Phy. 75, 307, 1962.

(90) V. HERBERT.

A palatable diet for producing experimental folate deficiency in man.
Amer. J. Chim. Nutr. 12, 17, 1963.

(91) Editorial.

Nutritionnal folate deficiency.
B.M.J. 2, 377, 1968.

(92) Editorial.

Nutrition and age.
B.M.J. 2, 396, 1969.

(93) NAVARRO, RAY, POLONOWSKI, LAPLANE.

Acide folique sérique en pédiatrie. Résultats normaux et pathologiques.
Am. Fran. Ped. 25, 19, 1968.